Aus der Frauenklinik der Universität Tübingen
Geschäftsführender Direktor: Professor Dr. H. A. Hirsch

TESTOSTERONSTOFFWECHSEL IN FOETALEN GEWEBEN

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin
der Medizinischen Fakultät
(Klinische Medizin)
der Eberhard-Karls-Universität
Tübingen

vorgelegt von
Johan Georg Winkler
aus Hamburg

1981

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548919_0013

Aus der Frauenklinik der Universität Tübingen
Geschäftsführender Direktor: Professor Dr. H. A. Hirsch

TESTOSTERONSTOFFWECHSEL IN FOETALEN GEWEBEN

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin
der Medizinischen Fakultät
(Klinische Medizin)
der Eberhard-Karls-Universität
Tübingen

vorgelegt von
Johan Georg Winkler
aus Hamburg

1981

Dekan:	Professor Dr. K. Voigt
Berichterstatter:	Professor Dr. A. E. Schindler
	(Professor Dr. H. A. Hirsch)

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

REFO-DRUCK HANS VOGLER TÜBINGEN

I N H A L T S V E R Z E I C H N I S

Seite

I. Einleitung 4
A. Testosteron 4
B. Stoffwechselweg vom CoA zum Testosteron 5
C. Δ4- und Δ5-Weg 7
D. Limitierende und steuernde Faktoren auf testikulärer Ebene 7
E. Weitere testikuläre Stoffwechselvarianten 8
F. Bedeutung des Testosterons für die foetale Entwicklung 9
G. Plasmatische und zelluläre Steroidrezeptoren 12
H. Gonadotrope Steuerung des Androgenumsatzes 17
I. DHT 19
J. 5α-Androstan-3β,17β-Diol 22
K. Androstendion 24
L. Fragestellung der vorliegenden Arbeit 27
II. Durchführung der Untersuchungen 28
A. Vorbemerkung 28
B. Verwendete Materialien 28
1.) Lösungsmittel und Chemikalien 28
2.) Kristalline Steroide 29
3.) Radioaktive Steroide 29
4.) Verwendete Geräte und Hilfsmittel 31
5.) Messung der Radioaktivität 31
6.) Kurzgefaßte Indikationen 32
C. Vorbereitung der Versuche 35
D. Inkubation 36
E. Interner Standard 36
F. Extraktion und Kaltstandard 37
G. Acetylierung 37
H. Dünnschichtchromatographie 38
I. Entnahme des "1/20" 40
J. Kristallisation zu konstanter $^{3}H/^{14}C$-Ratio 40

K. Berechnung der Umwandlungsrate 41
1.) Wiederauffindungsrate 42
2.) Totale ^{14}C 42
3.) Korrekturfaktor 42
4.) Umwandlungsrate 43
5.) Beispiel 43
L. Statistische Auswertung 44
III. Testosteronumsatz in foetalem Gewebe 45
A. Haut 45
1.) Literaturnachweis 45
2.) Ergebnisse 55
a.) Foetale Kopfhaut 55
b.) Foetale Rückenhaut 60
c.) Hautproben verschiedener Regionen eines Foeten der 25.SSW 64
d.) Foetale Labia majora 65
e.) Genitalhaut eines Foeten der 36.SSW 67
B. Scrotalgewebe 68
1.) Literaturnachweis 68
2.) Ergebnisse 70
C. Herz 74
1.) Literaturnachweis 74
2.) Ergebnisse 75
D. Lunge 79
1.) Literaturnachweis 79
2.) Ergebnisse 82
E. Leber 87
1.) Literaturnachweis 87
2.) Ergebnisse 93
F. Niere 98
1.) Literaturnachweis 98
2.) Ergebnisse 100
G. Nebenniere 104
1.) Literaturnachweis 104
2.) Ergebnisse 109

H. Darm..... 112
1.) Literaturnachweis..... 112
2.) Ergebnisse..... 113
IV. Statistischer Vergleich (Zusammenfassung)..... 116
Literaturverzeichnis..... 122
Danksagung..... 135
Lebenslauf..... 136

(Die Kennziffern der verwendeten Literatur sind im Text mit ___ gekennzeichnet.)

I.Einleitung

A.Testosteron

Im Jahre 1850 beschrieb F.Leydig jene - später nach ihm benannten - Zellen im testikulären Gewebe (LEYDIG,1850 71), die 53 Jahre später erstmalig mit sekundären geschlechtsspezifischen Verhaltensmustern in Verbindung gebracht wurden (BSUIN et ANCEL,1903 14). Heute wissen wir, daß die Leydig'schen Zellen im männlichen Hoden Ort der Biosynthese jenes Hormons sind, welches - nach seinem Ursprungsort Testosteron benannt - entscheidenden Einfluß auf Ausbildung und Erhaltung primärer und sekundärer Geschlechtsmerkmale und -funktionen nimmt und darüberhinaus noch weitere, in erster Linie anabole Wirkungen im Gesamtorganismus entfaltet. Daß die Leydigzellen vor allen anderen Hauptquelle testikulärer Steroide sind, konnte mittels Versuchen mit Fluoreszenzantikörpern gezeigt werden (WOODS et DOMM,1966 153). Speziell beim Mann bewirkt das Testosteron Reifung und Aufrechterhaltung der Trophik des Epithels in den Tubuli seminiferi, Reifung und Aufrechterhaltung der Funktion von Prostata und Samenblase, Entwicklung und Erhaltung des männlichen Behaarungtyps, die Aufrechterhaltung der Talgdrüsenfunktion, den puberalen Wachstumsschub, den Schluß der Epiphysenfugen sowie die Regulation der Gonadotropinabgabe der Hypophyse über eine negative Rückkoppelung im Hypothalamus. Neben der bereits erwähnten allgemeinen anabolen Wirkung kommt es zu einer Steigerung von Libido und Potenz (SIEGENTHALER,1973 121). Im Hoden direkt halten Testosteronspiegel, die weit über der peripheren Plasmakonzentration liegen, die Spermatogenese aufrecht (NEAVES et al.,1975 87); ein Abfall des Hormonspiegels an dieser Stelle bewirkt noch keine Veränderung des männlichen Phänotyps, hat aber eine sofortige Einstellung der Spermatogenese zur Folge, wie Versuche an hypophysektomierten Ratten zeigen konnten (HELLER et al., 1970 58).Auch bei der Frau, bei der die Androgene zu 40% aus Ovar und Nebennieren-

rinde und zu 60% aus extraglandulärem Stoffwechsel stammen, entfaltet das Testosteron seine Wirkung: Es beeinflußt die geschlechtsspezifische Differenzierung des ZNS, die Entwicklung der äußeren Genitale, die puberale Entwicklung, Menarche, Zyklusfunktion, das Sexualverhalten, die Sekundärbehaarung, die Talgdrüsenaktivität, die Entwicklung der Mammae und die der Knochen. Ferner ist es im extraglandulären Steroidstoffwechsel verankert (SCHINDLER,1976 110).

B.Stoffwechselweg vom CoA zum Testosteron

Die Biosynthese der Androgene geht von dem C27-Steroid Cholesterin aus, welches im reifen Hoden seinerseits aus Acetyl-CoA über Squalen und Lanosteron gebildet wird. Über das 20α-Hydroxycholesterin und das 20α-20-Dihydroxycholesterin kommt es nach Verkürzung der Seitenkette zur Bildung der ersten Schlüsselsubstanz im Androgenstoffwechsel, dem Pregnenolon. Es ist eine Eigenheit der Synthese sämtlicher gonadaler und Nebennierenrindenhormone, daß sie aus dem Grundbaustein des Cholesterins entstehen durch Abspaltung von Seitenketten zu C21- (Progesteron, Pregnenolon, Cortison, Aldosteron), C19- (Testosteron) und C18-Steroiden (Oestrogene). So entsteht aus Pregnenolon über Zwischenstufen Testosteron; dabei kann bei verschiedenen Vertebraten je nach Spezies und Reifestadium der sog. Δ4- als auch der sog.Δ5-Weg beschritten werden. Abbildung 1 gibt einen Überblick über die Verstoffwechselungsmöglichkeiten des Pregnenolons; dabei sind auch solche Steroidmetabolite berücksichtigt, die in peripheren, sog. "androgenen Zielorganen" gebildet werden. Gleichfalls aufgeführt sind die Enzyme, die die einzelnen Reaktionen katalysieren. Es sei in diesem Zusammenhang darauf verwiesen, daß gerade auch die Lokalisierung der Δ^{4-5}-3β-Hydroxysteroid-Dehydrogenase (HSD) in den Leydig-Zellen (BAILLIE et al.,1966 3) und speziell in deren Mikrosomen (MUROTA et al.,1967 85) als einem zentralen Enzym in der Verstoffwechselung von Pregnenolon zu Testosteron dazu beitrug, in diesem Zelltyp den Hauptort der Testo-

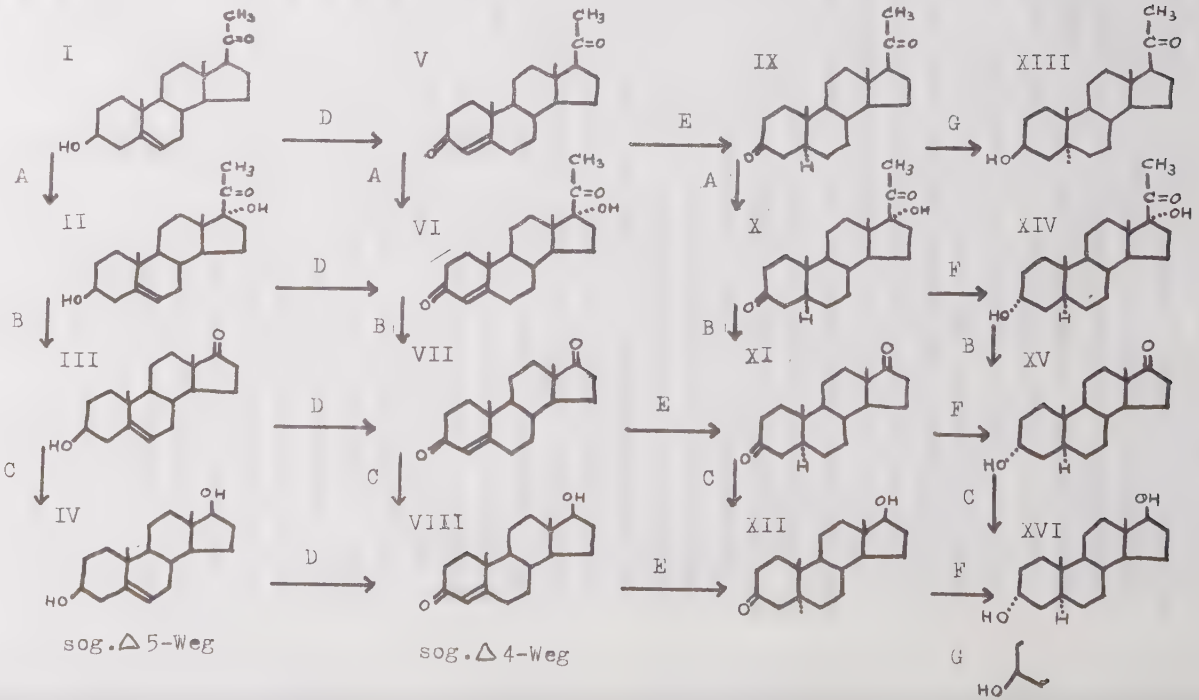
Abbildung 1: Stoffwechselwege des Pregnenolon

I	Pregnenolon	V	Progesteron
II	17α OH-Pregnenolon	VI	17α OH-Progesteron
III	Dehydroepiandrosteron	VII	Androstendion
IV	5-Androsten-Diol	VIII	Testosteron

A 17α-Hydroxylase
B C20,21-lyase
C 17β-HSD
D Δ5-3β-HSD-Δ4-5Isomerase
E 5α-Reductase
F 3α-HSD
G 3β-HSD

Acetyl-CoA
Squalen
Lanosteron
Cholesterin

IX	5α-Pregnan-3,20-Dion	XIII	5α-Pregnenolon
X	17α OH-5α Pregnan-3,20-Dion	XIV	5α,17α OH-Pregnenolon
XI	5α-Androstan-Dion	XV	Androsteron
XII	DHT	XVI	5α-Androstan-3α bzw.3β,17β-Diol



steronbiosynthese des Hodens zu markieren.

C. Δ4- und Δ5-Weg

Über die Stoffwechselwege der Androgene und ihrer Vorläufer im Hoden sowohl in foetaler wie auch in postnataler Zeit gibt es bei verschiedenen Vertebraten - wie bereits angedeutet - unterschiedliche Befunde. Ausgehend vom Dehydroepiandrosteron und **Androstendion** belegten SULCOVA und STARKA (1973 130) die Aktivität von 17β-HSD, 3β-HSD und der Δ^{4-5}Isomerase im normalen, reifen menschlichen Hoden. 5α-Reductase konnte - gerade im Gegensatz zum Nebenhoden, wo Testosteron zu 17β-Hydroxy-5α-Androstan-3-on (=5α-Dihydrotestosteron, DHT) und **Androstendion** zu 5α-Androstan-Dion verstoffwechselt wurde, - nicht nachgewiesen werden. Während EIK-NES (1970 31) genau wie NEAVES (1975 87) von einem Überwiegen des Δ4-Weges über Progesteron, 17α-OH-Progesteron und **Androstendion** beim Mann sprechen, stellten YAMAHARA und TROEN (1972 157) auf Grund ihrer Untersuchungen die These auf, daß der Δ5-Weg (vgl. Abbildung 1) der quantitativ wichtigere sei, ein Befund, der sich übrigens auch am foetalen Schweinehoden fand (SEGAL et RALSIDE, 1975 117). VIHKO und RUONEN (1974 144) fanden in der Vena spermatica von Menschen mit Ausnahme des Progesterons sämtliche Metabolite des Δ4- und Δ5-Weges, wobei diejenigen des Δ5-Weges in konjugierter Form - als Sulphate - vorlagen. Ob und inwieweit die entsprechenden Sulphatasen einen limitierenden Effekt auf die Steroidsynthese haben, bleibt allerdings umstritten. Immerhin betonen die Autoren die Bedeutung des Δ5-Weges für den menschlichen Hoden.

D. Limitierende und steuernden Faktoren auf testikulärer Ebene

Gesichert gilt die Bedeutung der Δ^{4-5}-3β-HSD als limitierenden Enzym bei der Umsetzung von Pregnenolon zu Testosteron. DER-FONG FAN und TROEN (1975 25) konnten dies für die Umwandlung von Δ5-3β-Hydroxysteroiden zu Δ4-3-oxo-Steroiden zeigen. Dabei ist die Δ^{4-5}-3β-HSD offenbar sowohl für

C21- wie auch für C19-Steroide "zuständig"; es konkurrieren also Pregnenolon, Dehydroepiandrosteron und 5-Androsten-Diol miteinander um dieses Enzym, auf dessen Bedeutung für die Steroidsynthese im foetalen Hoden noch einzugehen sein wird. Ein weiterer Steuerungsmechanismus auf testikulärer Ebene wird durch Produktanhäufung vermittelt: Androstendion und Testosteron inhibieren die weitere Umwandlung von Dehydroepiandrosteron und 5-Androsten-Diol. Ein ähnliches negatives "feed back" erfolgt ebenfalls über das Testosteron, welches - ebenfalls über den Mechanismus der Produktanhäufung - die mikrosomale Cholesterinsynthese aus Acetyl-CoA über Squalen und Lanosteron steuert (GAYLOR et al.,1965 39). Der Vollständigkeit halber sei erwähnt, daß auch 17β-Oestradiol die Testosteronsynthese blockieren kann (YAMAHARA et TROEN,1972 156).

E. Weitere testikuläre Steroidstoffwechselvarianten

Es sei darauf hingewiesen, daß die Steroidsynthese des Hodens bei verschiedenen Vertebraten nach der Geburt gewissen Veränderungen unterliegen kann. So können offenbar in der Periode der sexuellen Reifung der Ratte in den Leydig-Zellen des Hodens neben der Synthese von Testosteron aus Pregnenolon (nachgewiesen durch die Aktivität der 3β-HSD bei der Umwandlung von Dehydroepiandrosteron und Pregnenolon in Androstendion und Progesteron) potente, 5α-reduzierte Androgene unter "Umgehung" des Testosterons gebildet werden. Diese Metabolite steigen in der puberalen Phase um das 20-fache der Δ4-3-oxo-Steroide, um dann mit dem Erreichen der sexuellen Reife wieder auf niedrigere Werte abzufallen (WIEBE,1976 148). Gleichfalls eine Umgehung des Δ4- und des Δ5-weges stellten YAMADA et al.1976 bei praepuberalen Ratten fest : Nach Injektion von markiertem Progesteron und 5α-Pregnan-Dion konnten nur 5α-Androstan-3α,17β-Diol sowie Androsteron als Hauptmetabolite festgestellt werden (155). Einen ähnlich hohen Anteil an 5α-reduzierten Metaboliten in reifenden Rattenhoden fanden LACROIX et al.(1975 69).

Ein ähnlicher Befund ergab sich auch bei Mäusen vor der Geschelchtsreife. Neben dem Δ 4-Weg fand sich ein Stoffwechselweg über das 17α -Hydroxy-Progesteron und das 17α -Hydroxy-Pregnandion direkt zum DHT, der im reifen Hoden dann wieder entfiel (TSUJIMURA et MATSUMOTO,1974 136 , TSUJIMURA et al.,1975 137). Ob diese Stoffwechselvariante auch beim Menschen in der Vorpubertät vorkommt und ob sie eine physiologische Bedeutung hat, erscheint fraglich: Es findet sich bei Jungen unter 10 Jahren kein DHT in der Vena testicularis (SIEGENTHALER,1973 121).

F.Bedeutung des Testosterons für die foetale Entwicklung

Neben den geschilderten Wirkungen des Testosterons in der Zeit nach der Geburt, kommt diesem Hormon auch in der foetalen Entwicklung eine zentrale Bedeutung für die geschlechtliche Differenzierung nicht nur der Genitale, sondern auch der gonadotropen zentralnervösen Strukturen zu. Typischerweise liegen die Testosteronspiegel im Plasma bei neugeborenen Jungen und Mädchen etwa gleich hoch (84± 17 bzw.77± 32 ng/100 ml). In der Foetalzeit liegen jedoch signifikante Unterschiede in der 12.-18.SSW vor (12.-13.SSW: 255± 99 bzw. 32± 28; 15.-18.SSW: 265± 90 bzw.26,5± 12 ng/100 ml). Den hohen werten bei männlichen Foeten geht eine Hyperplasie der Leydig-Zellen parallel (ABRAMOVICH et ROWE,1973 1), ferner läßt sich in dieser Periode die 3β -HSD als das Schlüsselenzym der Testosteronsynthese nachweisen (NIEMI et al.,1967 88). Nach dieser kritischen Periode, in welcher die sexuelle Differenzierung erfolgt (s.u.), fallen die Testosteronspiegel beim männlichen Foeten um die 20.SSW und gleichen sich denen der weiblichen an. Obwohl bis zu der 15.SSW in der Regel die männlichen Genitale eindeutig ausgebildet sind, - gegenüber einer noch ambivalenten Situation in der 9.SSW, die eine Entwicklung in beide Richtungen, männlich und weiblich , zuläßt (LANGMANN,1972 70) - geben diese Plasmaspiegel, so eindeutig sie sein mögen, noch keinerlei Auskunft darüber, ob und inwieweit nun tatsächlich das Testosteron das

entscheidende Androgen ist. Hierüber geben die Arbeiten von WILSON (1973 150) und SIITERI und WILSON (1973 151 bzw. 1974 122) Aufschluß.

Am Beispiel des foetalen Kaninchens zeigten SIITERI und WILSON, daß die Fähigkeit des Hodens Testosteron aus placentären Vorstufen zu bilden - die Cholesterinbiosynthese ist nach dem ersten Viertel der Schwangerschaft bei keinem der untersuchten Vertebraten möglich -, abhängig ist von der Heranreifung eines entsprechenden enzymatischen Systems. Mit der Bildung der 3β-HSD-Δ^{4-5}-Isomerase - beim Kaninchen am 17.Tag der Entwicklung - ist dieser Prozeß abgeschlossen, sind die bereits vorher nachweisbaren 17α-Hydroxylase und C20-21-lyase ergänzt. Zusammen sind die drei Enzyme befähigt, aus placentär bereitgestelltem Pregnenolon Testosteron zu bilden. Progesteron wird von der Kaninchenplazenta drei- bis neunmal weniger bereitgestellt, wie denn auch die Bildung von Testosteron aus Progesteron dreimal niedriger ist als aus Pregnenolon. Zeitlich koinzidiert die nun einsetzende Hormonsekretion mit dem histologischen Nachweis der Leydig-Zellen im Hoden. Die Verstoffwechselung von Pregnenolon zu Testosteron erreicht am 21.-23-Tag maximale Raten; in dieser Zeit wird die Bildung des männlichen Phänotyps irreversibel (SIITERI et WILSON,1973 151). Derartige Schwankungen wurden auch von STEWART und RAESIDE (1976 128) in Organkulturen foetaler Schweinehoden festgestellt: Die von einer SSL von 2,2-2,3 cm an feststellbare Testosteronsekretion erreichte ein Maximum bei einer SSL von 3,2-3,9 cm, um dann ab 4 cm SSL wieder abzufallen.

Eine ähnliche Entwicklung kann auch beim Menschen beobachtet werden: Von der 8.-10.SSW an, entsprechend einer SSL von 3,1-5,4 cm, steigt die Testosteronbildung von Null auf maximale Raten in der 12.-13.SSW pro Gewichtseinheit des Hodens; pro Gesamtorgan wird dieses Maximum erst mit der 17.-21.SSW erreicht (vgl.ABRAMOVICH et ROWE,1973 1). Auch hier finden sich gleichzeitig Vergrößerung und Cytodifferenzierung der

Leydig-Zellen. Offen bleibt hier die Frage, ob die Heranreifung des Enzymsystems Enzym für Enzym - wie beim Kaninchen - oder als ganzes erfolgt - o d e r , ob das Hodengewebe unter übergeordneten Kontrolle hypophysärer Gonadotropine steht. Auf den letzteren Punkt wird im Folgenden noch einzugehen sein. Entscheidend in dieser Studie (SIITERI et WILSON,1974 122) ist, daß zwischen Wirkungen von Testosteron selbst und seinem 5α -reduzierten Metabolit DHT differenziert werden kann. Die unmittelbare Wirkung des Testosterons besteht darin, daß am sexuell noch indifferenten Foeten der Wolff'sche Gang erhalten bleibt und sich zu Epidydimis, Vas deferens und Samenbläschen herausbildet, ferner, daß sich der Müller'sche Gang zurückbildet, während es in der Anlage der äußeren Genitale - Phallus, Urethra, Scrotum und Prostata (i.e.Geweben aus Sinus urogenitalis, Genitalhöcker und -wulst) - zu DHT metabolisiert die Ausbildung des männlichen Phänotyps bewirkt.

Weitere differenzierende Untersuchungen in diese Richtung von SCHULTZ und WILSON (1974 114) und WILSON (1973 150) machen das Ausmaß der Probleme deutlich, die mit der Erforschung der Interaktion von Hormon und zellulären - cytoplasmatischen wie nucleären - Strukturen auftreten. So belegt der Nachweis der Kapazität eines Gewebes zur Bildung eines Metaboliten noch lange nicht, daß dieser auch tatsächlich eine physiologische Bedeutung hat. Fehlen im untersuchten Gewebe die Interaktionspartner, die eine biologische Wirkung - etwa verstärkte RNS-Polymerase-Aktivität oder sonst einen Schritt auf dem Weg zur nucleären Proteinsynthese - vermitteln, könnte der nachgewiesene Stoffwechselschritt sogar Teil eines Inaktivierungsmechanismus sein. Andererseits kann ein Wirkstoff, der unter experimentellen in-vitro-Verhältnissen einem Gewebe zugeführt wird, wohl eine scheinbar physiologische Wirkung entfalten, spielt aber in vivo gar keine Rolle, weil das fragliche Gewebe gar nicht in der Lage ist, ihn zu bilden. So konnten SCHULTZ und WILSON (1974) am Rattenhoden zeigen, daß auch DHT, 5α -Androstan-3α ,17β -Diol, Me-

thyltestosteron und Methyl-DHT sehr wohl auch in der Lage sind, die Virilisierung des Wolff'schen Ganges voranzutreiben (114), obgleich die Kapazität dieses Gewebes Testosteron in der 5α-Position zu reduzieren erwiesenermaßen vernachlässigbar ist (150). Dies, sowie der Umstand, daß Testosteron in der Phase der geschlechtlichen Differenzierung das dominierende zirkulierende Androgen ist, läßt allerdings wahrscheinlich sein, daß in der Tat das Testosteron das aktive Androgen "vor Ort" ist, obgleich die Androgenrezeptoren der Zellen des Wolff'schen Ganges offenbar nicht ausschließlich auf die Δ4-3-oxo-Steroid-Struktur eingestellt sind (114)

Während die bestimmenden Faktoren der geschlechtlichen Differenzierung männlicher Foeten weitgehendst erkannt sind, läßt sich beim weiblichen ein entsprechende Befund noch nicht erheben. Möglicherweise ist es gerade das Ausbleiben des Testosteronstimulus, der eine dem Foeten zunächst immanente Tendenz zur weiblichen Ausdifferenzierung zur Geltung kommen läßt. PETERS (1976) weist auf einen zeitlichen und möglicherweise auch kausalen Zusammenhang der weiblichen Entwicklung mit dem Einwachsen der Urnierenkanälchen in das Ovarmark hin; diese bilden sich dann allerdings wieder zurück, während beim männlichen Foeten durch diesen Vorgang die spätere Rete Testis markiert wird. Zu diesem Zeitpunkt setzen auch die Reifeteilungen der Oogonien ein und ziehen sich bis zu einem Zeitpunkt kurz vor bzw. kurz nach der Geburt hin: Die Eier bleiben dann bekanntlich in der meiotischen Prophase liegen (95).

G.Plasmatische und zelluläre Steroidrezeptoren

Es wurde bereits darauf hingewiesen, daß es neben der unmittelbaren Verstoffwechselung von Steroiden zu aktiven Sexualhormonen noch andere Faktoren gibt, die die Entfaltung einer androgenen Wirkung steuern. Es handelt sich dabei um großmolekulare Proteine, die einerseits eine hohe Affinität zu einem oder mehreren Steroiden besitzen, die andererseits durch ihren physiologischen Ort - im Plasma oder an einer

bestimmten Zellstruktur - die Wirkung des gebundenen Steroids vermitteln. In diesem Zusammenhang ist an erster Stelle das sog."sex hormone binding protein"(SHBP) zu nennen, welches - im Plasma zirkulierend - Testosteron zu binden vermag und zunächst einmal darauf Einfluß nimmt, wieviel Hormon überhaupt dem Androgenstoffwechsel zugeführt wird. Es handelt sich dabei um ein in der Leber gebildetes β-Globulin mit Molekulargewicht 40 000, welches 17β-Hydroxysteroide (also vor allem Testosteron, DHT und Oestradiol) über SH-Gruppen zu binden vermag. Beim erwachsenen Mann sind 65% des Plasmatestosteron an das SHBP gebunden (SIEGENTHALER, 1973 121). Da Oestrogene Sekretion und Steroidbindungskapazität des SHBP zu steigern vermögen, kommt diesem Protein geradezu eine Verstärkerfunktion zu MINGUELL et al., 1975 80), da alle Zustände verminderter Testosteronsekretion (z.B.Vorpubertät und Senium) auf diese Weise zusätzlich zu dem niedrigeren Testosteronspiegel die Bindungskapazität des SHBP steigern (VERMEULEN et al.,1972 142).

Der Nachweis spezifischer Androgenrezeptoren in einem Gewebe darf nach MINGUELL et al.(1975) fast schon als Kriterium dafür gelten, daß es sich um ein androgenes Zielgewebe handelt. Dabei lassen sich nach dem Stand der Forschung für derartige Proteine verschiedenste Funktionen und Lokalisationen bestimmen: Transportproteine, die gemäß ihrer Aufgabe in der Zelle in niedriger Quantität, aber mit hoher Steroidaffinität anfallen, sowie Speicherrezeptoren, die sich in größeren Mengen, aber mit niedriger Affinität nachweisen lassen. Der Einfluß der Androgene auf das Transskriptasesystem wurde mehrfach belegt, jedoch ist der Vorgang der Proteinbiosyntnese im Zellkern ein derart komplizierter biochemischer Prozeß, daß eine ganze Reihe von Möglichkeiten in Betracht kommen, wo das vor Ort wirksame Hormon gebunden wird bzw.seinen Einfluß nimmt. Hierfür kommen in Frage das Chromatin, die RNS-Polymerase, andere strukturell und funktionell wirksame chromosomale Proteine und Histone (basische

Proteine). Eingewirkt werden könnte auf die Aktivität der RNS, deren Transport (m-RNS) sowie auf den intrazellulären Pool ihrer Bausteine. Daß die RNS-Synthese nach Gabe von Androgenen anstieg, konnte nachgewiesen werden an Prostata und Samenblase von Ratten, dem Oviduct von Hühnern sowie an Mäuseniere und -speicheldrüse (80). Obwohl in der Literatur eine Fülle von Einzelschritten der Proteinbiosynthese beschrieben sind (s.u.), auf welche die Androgene Einfluß zu nehmen vermögen, besteht über den Gesamtzusammenhang doch noch Unklarheit, bzw. bestehen lediglich Modellvorstellungen - so etwa bei BAULIEU (1975), der vermutet, daß am Anfang einer Kaskade von Einzelreaktionen die Interaktion des vor Ort wirksamen Androgens mit einem "key intermediate protein" steht (5).

Der Vorderlappen der Prostata von Ratten dürfte in diesem Zusammenhang zu denjenigen Organen gehören, an denen die Wirksamkeit von Testosteron und seiner Metabolite mit am Intensivsten studiert worden ist. BRUCHOVSKY und WILSON (1968) wiesen daraufhin, daß vermutlich das DHT das im Prostatavorderlappen wirksame Androgen ist, da es gegenüber Testosteron im Verhältnis 4:1 - 13:1 im Kernchromatin gebunden wurde (15). UNHJEM und TVETER (1969) wiesen ein Rezeptorprotein im Cytosol desselben Organs nach (138). Ein derartiger Cytosolrezeptor für DHT wurde von GELLER et al.(1975) auch in der menschlichen Prostata nachgewiesen. Er konnte klar unterschieden werden von dem bereits genannten Plasma-SHBP (40). PARSONS et al. stellte in der Rattenprostata die Bindung von DHT an ein Protein fest, welches die RNS-Polymerase von E.coli inhibierte. Allerdings wurde durch DHT die Inhibierung fast garnicht aufgehoben (93). UNHJEM (1970) inkubierte das Homogenat der Prostata mit markiertem Testosteron; DHT fand sich anschließend nur in der nucleären Fraktion. (140)

Ein Licht auf das Verhältnis der einzelnen nachgewiesenen Rezeptoren zueinander warf die Studie von KANG et al.(1969).

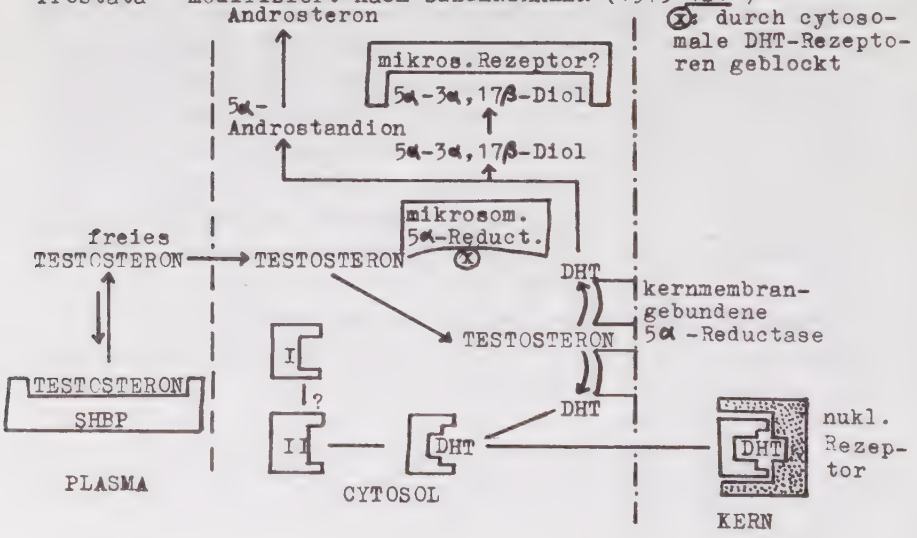
Auch diese Autoren bestätigen die Existenz eines kerngebundenen Makromoleküls im Vorderlappen der Rattenprostata, welches DHT auch dann noch band, nachdem es aus dem Plasma völlig verschwunden war, sowie die eines Cytosolrezeptors. Wurde die Fraktion der Zellkerne (nach Zentrifugierung) alleine mit DHT inkubiert, fand keine Bindung statt; wurde dagegen die Cytosolfraktion dazugegeben, gelangte DHT an die Bindungsstellen im Zellkern. Dieser Befund belegte einen Transportmechanismus zwischen Cytosol und Zellkern und ordnete die androgenbindenden Makromoleküle in einen funktionellen Zusammenhang ein. FANG et al. kamen darüberhinaus zu der Vermutung, daß sich das Protein im Cytosol durch die Bindung von DHT in seiner sterischen Struktur ändern muß, da nur ein solchermaßen verändertes Molekül die Kernmembran passieren und im Kern an den dortigen Rezeptoren gebunden werden kann (33). Kompliziert wird diese Sachlage durch weitere Befunde von FANG (1971): Er wies zwei DHT-bindende Komplexe im Cytosol nach (I und II), von denen nur einer - nämlich II - auch im Kern nachgewiesen werden konnte, allerdings auch nur nach erfolgter Androgenbindung. Komplex I wiederum inhibierte die Aufnahme von II in den Zellkern; möglicherweise stellt er eine Vorstufe von II dar (34). Als drittes Element kommt neben dem Androgen und seinem Rezeptorprotein die 5α-Reductase ins Spiel, jenes Enzym, das Testosteron zu DHT reduziert. KAORO NOZU und TAMAOKI (1973) konnten im Homogenat der Rattenprostata die höchsten Aktivitäten der 5α-Reductase in Kernmembran und Mikrosomen nachweisen. Die 3α-HSD, die DHT zu 5α-Androstan-3α,17β-Diol umsetzt, fand sich ausschließlich im Cytosol. Die im Cytosol nachgewiesenen Androgenrezeptoren blockierten nach dieser Studie die mikrosomale 5α-Reductase, so daß als effektiver Umwandlungsort für Testosteron die Kernmembran in Frage kommt (65), ein Ergebnis, das verdeutlicht, wie kompliziert die einzelnen Faktoren noch im Vorfeld der eigentlichen Wirkungsentfaltung des Hormons miteinander interagieren.

Ähnlich wie für die Rattenprostata konnten auch für den

Rattenepidydimis androphile Moleküle in der "supernatant" sowie in der nucleären Fraktion des Homogenats festgestellt werden (HANSSON et TVETER,1971 52), von denen sich das des Cytosols von dem beschriebenen Cytosolrezeptor der Rattenprostata unterschied (HANSSON et DJØSELAND,1972 53). Außerdem fand sich ein Transportprotein für DHT in der Hoden- und Nebenhodenflüssigkeit, welches sich wiederum von dem intrazellulären Makromolekül für DHT im Nebenhoden unterschied (HANNSON et al.,1973 54).

Abbildung 2 versucht eine bildliche Darstellung der oben geschilderten Befunde an der Prostata. Abbildung 3 zeigt einen Mechanismus zur Umwälzung zirkulierenden Testosterons, wie ihn ROBEL (1971) für die Leberzelle annimmt. Er ist ebenfalls beding turch die Spezifität von Rezeptorproteinen: Das freie, in die Zelle gelangende Testosteron wird zu DHT und weiter zu 5α-Androstan-3α,17β- und -3β,17β-Diol verstoffwechselt. Letztere verlassen die Zelle wieder und verdrängen als 17β-Hydroxysteroide das Testosteron aus seiner

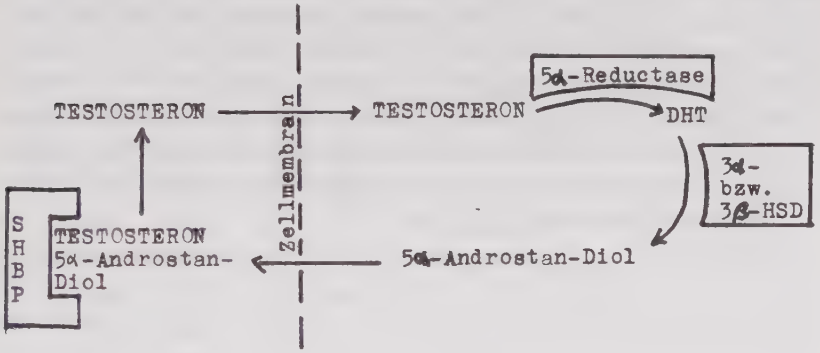
Abbildung 2: Blockschema des Testosteronumsatzes in der Prostata - modifiziert nach SIEGENTHALER (1973 121)



Bindung an das SHBP, ein Vorgang, der die Elimination zirkulierenden Testosterons aus dem Kreislauf dienen soll (101).

Gemeinsam ist allen diesen Befunden, daß die Wirkung der Androgene in den untersuchten Geweben nicht allein der Reaktionskinetik sondern jederzeit zellulären und plasmatischen Steuerungsfaktoren unterliegt. Auf die gonadotrope Steuerung des Androgenumsatzes soll im Folgenden eingegangen werden.

Abbildung 3: Elimination von Testosteron aus dem Kreislauf nach ROBEL (1971 101)



H.Gonadotrope Steuerung des Androgenumsatzes

Es ist bekannt, daß die hypophysären und placentären Gonadotropine Einfluß nehmen auf die Funktion des Hodens. während beim Manne das FSH die Spermatogenese fördert, induziert das LH die Testosteronsynthese in den Leydig'schen Zellen. Dabei nimmt das LH offenbar Einfluß auf die Aktivität der entsprechenden Enzyme (MOGER et ARMSTRONG,1974 81), speziell konnte das nachgewiesen werden für die Umsetzung von Cholesterin zu Pregnenolon. Offenbar wird die 20α -Hydroxylierung des Cholesterins sowie die Aktivität desjenigen Enzyms verstärkt, welches die Abspaltung der Seitenkette des Cholesterins katalysiert (MOYLE, 1970 85). Ebenfalls wird unter LH-Einfluß das im Testis gebildete, veresterte und

gespeicherte Cholesterol wieder entestert und weiterverstoffwechselt. Das endoplasmatische Reticulum - vermutlich der Ort der Testosteronbildung - nimmt gleichfalls unter LH-Einfluß zu. Indirekt Einfluß auf die Spermatogenese nimmt das LH über die Testosteronsekretion (STEINBERGER et STEINBERGER,1973 125).

Das Heranreifen des Enzymsystems notwendig zur Umwandlung von Pregnenolon zu Testosteron in der foetalen Entwicklung könnte unter dem Einfluß placentären HCG's stehen (SIITERI et WILSON, 1970 122). Experimentell nachgewiesen werden konnte ein stimulierender Effekt von HCG auf die Testosteronsekretion von - allerdings erwachsenen - Rattenhoden (LACROIX et al., 1974 68). Tatsächlich liegt es nahe, einen derartigen Einfluß auch beim menschlichen Foeten anzunehmen: Parallel zum Abfallen des HCG nach der 19.SSW kann eine Degeneration am Interstitium des Hodengewebes beobachtet werden (SIEGENTHALER.,1973 121).

Während beim Menschen nach der Geburt der Hoden unter hypophysärer Kontrolle steht, wird andererseits die Hypophyse in der foetalen Entwicklung durch die einsetzende Testosteronsekretion in der 8.-10.SSW irreversibel männlich geprägt. Die Quantität des anfallenden Testosteron - und dieses erreicht wie bereits erwähnt in der 8.-20.SSW ein Maximum - bestimmt in der intrauterinen Organisationsphase die funktionelle Qualität des Hypothalamus und der Hypophyse in der Funktionsphase, nämlich Pubertät und Geschlechtsreife, in Richtung auf tonisches Verhalten beim männlichen Foeten, auf zyklisches Verhalten dagegen beim weiblichen im Falle des Ausbleibens des besagten Testosteronanstieges (DÖRNER, 1973 28). Andererseits scheint aber ab der 12.SSW, in der sich die Anteile der Hypophyse - die als Rathke'sche Tasche bezeichnete Ausstülpung der embryonalen Mundhöhle und die kaudale Erweiterung des Diencephalons, das sog. Infundibulum - bereits an Ort und Stelle auf der Sella turcica des Keilbeins befinden (LANGMAN,1972 70), die foetale Hypophyse

Einfluß auf die Differenzierung des Hodens zu nehmen, da es bei anencephalen Foeten nicht zur Ausbildung und Erhaltung des Interstitiums kommt (SIEGENTHALER,1973 121).

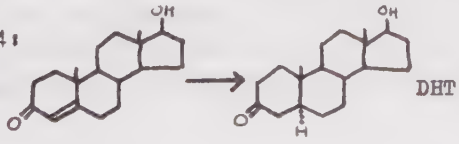
Es ist eine Besonderheit der Achse Hypothalamus/Hypophyse - Gonaden, daß der Rückkoppelungsmechanismus beim männlichen Geschlecht offenbar nicht nur über die eigentliche Regelgröße - in diesem Fall das Testosteron - läuft. Während bei der Schilddrüse direkt das Schilddrüsenhormon Thyroxin den entsprechenden hypothalamischen "releasing factor" und die im Ovar produzierten Östrogene ebenfalls direkt über den Hypothalamus LH und FSH senken, greifen im Falle des Androgenstoffwechsels außerhalb der Gonaden gebildete Metabolite in die Regulation der LH-Sekretion im Hypophysenvorderlappen ein. Nach Injektion von Testosteron, DHT, 5α -Androstan-3α - und 3β ,17β -Diol konnten ZANISI et al. (1973) zeigen, daß vor allem die Diole den Plasmaspiegel des LH senken. Testosteron wirkt also auf das Hypothalamus-Hypophysen-System durch seine Umwandlung in 5α -reduzierte Metabolite. Diese Hypothese wird bekräftigt durch den Nachweis, daß diese zentralnervösen Strukturen selber die Kapazität zu dieser Umwandlung besitzen, so daß der Rückkoppelungseffekt bereits hier induziert werden kann(SCHINDLER,1976 111).

Es wurde bereits bei der Darstellung der foetalen geschlechtlichen Differenzierung darauf hingewiesen, daß neben dem Testosteron auch seine Metabolite androgene Wirkung entfalten können, ja zum Teil die eigentlich wirksamen Substanzen darstellen. Es sollen im Folgenden diejenigen Testosteronmetabolite vorgestellt werden, deren Bildung in den verschiedenen foetalen Geweben in dieser Arbeit untersucht werden soll.

I.DHT (5α -Androstan-17β ol-3-on)

Abbildung 4:

Testosteron



DHT

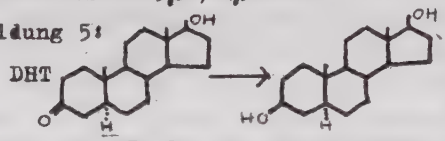
Die Erforschungen der Wirkungen des Testosterons erstreckten sich zunächst natürlicherweise auf diejenigen Gewebe, die als androgensensibel galten. Dabei ermöglichten entsprechende Methoden - Inkubation radioaktiv markierter Steroide und anschließende Isolierung und Identifizierung - die Verfolgung dieser Wirkungen bis auf das subzelluläre Niveau. Untersuchungen dieser Art führten zu der Erkenntnis, daß in den sogenannten androgenen Zielgeweben häufig der Testosteronmetabolit DHT das wirksame Androgen war. Damit rückte das entsprechende Enzym, die 5α-Reductase, in den Blickpunkt. Wie bereits erwähnt führte die rasche Elimination von DHT aus der Blutbahn von Ratten und dessen Konzentration in den Kernen der Prostatavorderlappenzellen BRUCHOVSKY und WILSON (1968) zu der Annahme, daß das DHT das wirksame Androgen in der Rattenprostata sei (13). Diese Arbeit zog eine Fülle weiterer Untersuchungen nach sich, die hier nicht alle genannt sein sollen. Der Befund, daß sich das DHT an dem Ort der Proteinbiosynthese - dem Zellkern - befand und nicht das Testosteron, konnte an den akzessorischen Geschlechtsorganen allgemein bestätigt werden (WILSON et GLOYNA,1970 149). Wichtig in diesem Zusammenhang waren diejenigen Untersuchungen, in denen der Testosteronmetabolismus in Beziehung gesetzt wurde zur biologischen Wirkung. BAULIEU et al.(1968) erbrachten den Beleg für diese Beziehung. Testosteron und mit noch größerer Wirkung DHT konnten in physiologischer Konzentration am Rattenprostataepithel Zellstruktur und -funktion erhalten. Dabei stimulierte Testosteron die sekretorische Aktivität und DHT die Zellteilung. Diese Untersuchung ließ sich offenbar an Zellkulturen besonders gut durchführen (4). SCHMIDT et al.(1972) untersuchten vergleichend die Wirkung von Testosteron und DHT an der Rattenprostata - hier wurde die Zellproliferation nach intraperitonealer DHT-Gabe erheblich mehr induziert als nach Testosteron, während die Wirkung auf den Zellmetabolismus gleich war - und an der Samenblase: Auch hier wirkte 5α-DHT stärker auf die Zellproliferation als Testoste-

ron; nach dreimaliger Applikation war der Effekt auf den Zellmetabolismus ebenfalls stärker (112). Offenbar ist die Wirkung des DHT auf verschiedene Gewebe nicht immer die gleiche. Androgene, neben dem Testosteron und 5α-Androstan-3α,17β-Diol auch das DHT wirken auf die Reifeteilung der Spermatocyten ein - so bei praepuberalen Rattenmännchen CHEMES et al., 1976 20 ; YASUE et al.,1974 158). Vor allem scheinen Pachyten und Diploten der Reduktionsteilung unter androgener Kontrolle zu stehen; welches der genannten drei Androgene dabei das auch physiologisch wirksame ist, konnte hier nicht entschieden werden, auf jeden Fall ist auch hier das DHT mit zu berücksichtigen (20). Da sich auch im (Ratten-)Epidydimis nach Inkubation mit markierter Testosteron sowohl nach in vitro (DJØSELAND et al., 1974 27) als auch nach in vivo Versuchen (DJØSELAND et al., 1973 26) DHT als Hauptmetabolit herausstellte, liegt auch hier die Vermutung nahe, daß es Einfluß nimmt sowohl auf die Epithelzellen wie auf die Spermatozoen, die - zunächst noch unreif und unbeweglich aus dem Hoden kommend - morphologischen und biochemischen Reifungsvorgängen unterworfen sind. Auf die entscheidende Rolle des DHT bei der männlichen geschlechtlichen Differenzierung in der foetalen Zeit wurde bereits eingegangen (SIITERI et WILSON,1974 122). Mittlerweile wurde die 5α-Reductase in einer Reihe weiterer Gewebe nachgewiesen, z.B.auch im Rattenuterus, wo es das Oberflächenepithel zu kuboiden Wachstum anregte, im Gegensatz zu Testosteron, welches zylindrische Zellen wachsen ließ (GONZALES et al., 1972 48). Nicht immer kann dabei - wie hier - ein direkter Zusammenhang zwischen Androgen und biologischer Wirkung belegt werden. Offenbar ist letzteres auch je nach untersuchtem Organ immer wieder verschieden, wie o.g. Studien zeigen mögen. Aber gerade weil sich das DHT als Metabolit des Testosteron in so verschiedenen Organen nachweisen läßt (vgl. dazu auch den Literaturnachweis zu den in dieser Arbeit untersuchten Organen), erhebt sich die Frage, ob die 5α-Reductase ubiquitär vorkommt, und ob dies auch für die übrigen foe-

talen Organe zutrifft, nachdem sie bei der Ausbildung des Genitaltraktes eine so entscheidende Rolle spielt. Dieser Frage soll in dieser Arbeit nachgegangen werden.

1.5α-Androstan-3β,17β-Diol

Abbildung 5:



5α-Androstan-3β,17β-Diol

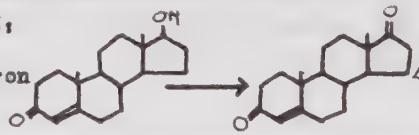
Neben dem DHT als vor Ort wirksamen Androgen zogen auch bald dessen Metabolite, nämlich das 5α-Androstan-3α - und das -3β,17β-Diol, die Aufmerksamkeit auf sich. Bereits 1966 konnten CHAMBERLAIN et al.(1966) bei Patienten mit benigner Prostatahypertrophie (BPH) die Aktivität der 3α- und der 3β-HSD in dem sog. "high speed supernatant" des Homogenats nachweisen (91). Es stellte sich sehr bald heraus, daß das 3α-Epimer häufig ein stärkeres Androgen war als das DHT, so z.B. am Nebenhoden, wo es bei hypophysektomierten Mäusen die Spermatogenese aufrechterhielt. Der gleiche Befund ergab sich an den Tubuli seminiferi der Ratten, und an der Kaninchenprostata wurde die DNS-Polymerase verstärkt aktiviert (CALANDRA et BLAQUIER,1973 17). Gerade in dieser Studie wird darauf hingewiesen, daß das 3α-Diol im Rattenhoden frei vestoffwechselbar mit dem DHT ist, und daß die zuständigen cytoplasmatischen und nucleären Rezeptoren beide - das DHT allerdings erheblich stärker - binden können. Diese freie Interkonversion von 3α-Diol und DHT macht es schwer, zwischen den androgenen Wirkungen der beiden zu differenzieren. SCHMIDT et al.(1973) beschreiben eine Zunahme des DNS-Gehaltes sowie eine Zellproliferation im Vorderlappen der Rattenprostata nach Gabe von 3α-Diol und auch von 3β-Diol. Gleichfalls steigern beide - vor allem das 3α-Diol - den Zellmetabolismus. Auch hier zeigt es sich, daß das 3α-Epimer frei austauschbar ist mit dem DHT. Anderes gilt für das 5α-Androstan-3β,17β-Diol: Die von der 3β-HSD katalysierte Reaktion war offenbar irreversibel, so daß für die Entfaltung der androgenen Wirksamkeit auf jeden Fall ein eige-

ner Rezeptor in der Zelle angenommen werden muß (113). Ein derartiger Rezeptor konnte auch von ROBEL et al.(1974) bestätigt werden (102). Die Irreversibilität der Umwandlung von DHT zu 3β-Diol wurde gleichfalls bestätigt von LLORET und WEISZ (1974 74), ebenfalls an der Rattenprostata, sowie durch ROBEL (1971 101) am Rattennebenhoden. Eine FSH-abhängige Epimerase für 5α-Androstan-3α- und 3β,17β-Diol wurde für das Rattenovar vor der Geschlechtsreife beschrieben (ECKSTEIN et SPRINGER,1971). Diese Epimerase wurde nur nach FSH-Gabe aktiv; durch den vermehrten Anfall von 3β-Diol - so die Autoren - würde vermutlich in der Pubertät im Zuge der Geschlechtsreifung eine zyklusabhängige Erweiterung der Vagina bewirkt (30). Ebenfalls beschrieben wurde ein freier Austausch von 3α- zu 3β-Diol und umgekehrt - hier allerdings über das DHT - in der Leber (REPKE et SAMUELS, 1964 100). Eine derartige freie Interkonversion der beiden Diole konnte - wie bereits erwähnt - in den Organen des Genitaltraktes der Ratte nicht nachgewiesen werden. Bei Patienten mit einer BPH war die Aktivität einer 3α/3β-Epimerase ebenfalls zu vernachlässigen (HORST et al., 1975 59). Das markierte 5α-Androstan-3α,17β-Diol wurde in diesem Gewebe rasch aufgenommen und zu DHT und zu 3β-Diol verstoffwechselt, während 5α-Androstan-3β,17β-Diol langsam aufgenommen und nur ganz geringfügig weiter umgewandelt wurde. Die Autoren kommen zu dem Schluß, daß das DHT und das 3α-Diol offenbar die Hauptmetabolite des Testosterons seien, und daß die Rezeptorproteine der Prostata offenbar diesen beiden vorbehalten sind. Als gesichert kann aber auf jeden Fall gelten, daß das 5α-Androstan-3β,17β-Diol folgende biologische Wirkungen hat: Es stimuliert die sekretorische Aktivität des Prostataepithels bei geschlechtsreifen Ratten (LLORET et WEISZ,1974 74 ; ZANISI et al.,1973 159). Eine weitere Wirkung dürfte eine Zellproliferation in diesem Gewebe sein (SCHMIDT et al.,1975 113), hier finden sich auch entsprechende mikrosomale Rezeptormoleküle (ROBEL et al., 1974 102). Nachgewiesen ist ferner die inhibierende Wir-

kung des 3β-Diol auf die LH-Sekretion (s.o.) bei Ratten (ZANISI et al., 1973 159 ; EWING et BROWN,1975 32). Beim Menschen gibt es Hinweise, daß das 3β-Diol die Talgdrüsensekretion der Haut stimuliert (STEWART et al.,1977 127). Da dieses Steroid ferner als Disulphat-conjugat im menschlichen Plasma nachgewiesen werden konnte (CRONHOLM et SJÖVALL,1968 21) und nach einer Methode von BERTHOU et al.(1972) auch im menschlichen Urin - die 3α/3β-Ratio betrug bei weiblichen Versuchspersonen 3:1, bei männlichen 5:1, was die Autoren zu der Vermutung veranlaßt, das 3β-Epimer würde auf Grund einer physiologischen Funktion zurückgehalten (90) -, ist anzunehmen, daß das 5α-Androstan-3β , 17β-Diol auch beim Menschen ein wirksames Androgen ist. Es soll in dieser Arbeit festgestellt werden, ob und in welchem Umfang dieser Metabolit auch in foetalen Geweben, die - mit Ausnahme des Scrotums - nicht zum Genitaltrakt gehören, nach Inkubation mit 4-^{14}C-Testosteron festgestellt werden kann.

K. **Androstendion** (5-Androsten-3,17-Dion)

Abbildung 6:



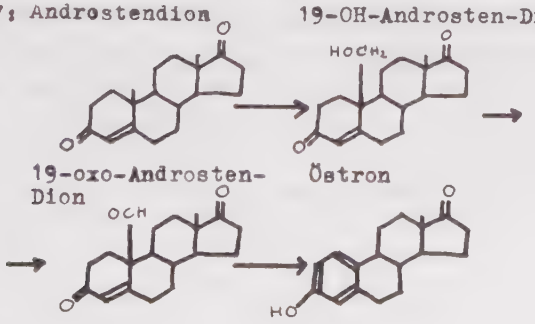
Testosteron **Δ4-Androstan**

Das **Androstendion** stellt eine wichtige Schaltstelle im Androgenmetabolismus dar. In der Zeit vor der Pubertät finden sich bei Knaben im Plasma ca. 86 ng/100 ml (gegenüber 42 ng/100 ml Testosteron), beim Mädchen 30 ng/100 ml (gegenüber 19 ng/100 ml Testosteron), d.h. beim Knaben ist die geringe Steroidsynthese im Hoden durch ein Verhältnis zugunsten des **Androstendion** gekennzeichnet (FRASIER et HORTON,1966 36). Bei beiden Geschlechtern kommt es nach der Pubertät zu einem Ansteigen des Testosteronspiegels, beim Manne auf Werte von 670 (8.00 Uhr) bis 360 (20.00 Uhr) ng/100 ml, während das **Androstendion** relativ konstant bleibt; bei der Frau finden sich in der Regel ca. 65 ng/100 ml Testosteron, gleichzeitig steigt aber auch der Spiegel des **Androstendion** , so daß der

Quotient der beiden Steroide sich nur geringfügig ändert (SIEGENTHALER,1973 121). Diese Relationen machen bereits deutlich, daß das **Androstendion** nur eine geringfügige androgene Wirkung besitzt. Während beim Mann das zirkulierende Testosteron praktisch vollständig aus dem Hoden stammt (neben einer geringfügigen Sekretion aus der NNR) und das **Androstendion** zu ca. 40% in der Peripherie gebildet wird, ist es bei der Frau umgekehrt: **Androstendion** wird primär stärker sezerniert, während 60% des Plasmatestosteron dem peripheren Stoffwechsel entstammen (SCHINDLER,1976 110).

Bei der Untersuchung der Faktoren, die in der foetalen Phase diejenigen zentralnervösen Strukturen beeinflussen, die für die Ausschüttung der Gonadotropine zuständig sind und das Sexualverhalten bestimmen, gewann die Frage nach den Stoffwechselcharakteristika des **Androstendion** Bedeutung. REDDY et al.(1974 99) belegten, daß es die Oestrogene sind, die hier als biologisch aktive Hormone wirksam sind. Diese wiederum entstammen dem Metabolismus testikulärer Androgene. Bereits 1967 hatten McDONALD et al. herausgefunden, daß nach Gabe von ^{14}C-**Androstendion** bei kastrierten und adrenalektomierten Versuchstieren - also nach Elimination der beiden wichtigsten Organe der Steroidsynthese - sich dennoch Metabolite des injizierten markierten Steroids im Urin fanden (75), ein Befund, der Anlaß zu der Vermutung gab, daß auch in peripheren Geweben ein Androgenmetabolismus stattfindet. Die Aromatisierung des **Androstendion** zu Oestron gewann in diesem Zusammenhang und in Hinblick auf die Wirkung der Oestrogene im ZNS entscheidende Bedeutung. Bei der Frage, wo eine solche Aromatisierung stattfindet (vgl.Abbildung 7),

Abbildung 7: Androstendion **19-OH-Androsten-Dion**



konzentrierten sich die Untersuchungen sowohl auf periphere Gewebe sowie auf die zentralnervösen Strukturen selbst. SCHINDLER et al. (1972) zeigten, daß das **Androstendion** durch periphere Aromatisierung die wichtigste Vorstufe des Östrons ist, zunächst für menschliches Fettgewebe (106). Weitere Untersuchungen (SCHINDLER et FRIEDRICH, 1975 108 , SCHINDLER, 1975 109) zeigten, daß beim Foeten vor allem Leber, aber auch Nebeniere, Lunge, Niere, Herz, Haut und Darm die Fähigkeit der Verstoffwechselung von **Androstendion** zu Oestron haben. NAFTOLIN et al. (1976 86) wiesen darauf hin, daß die Bereitstellung von Oestrogenen aus peripheren Geweben zum Zwecke der geschlechtsspezifischen Differenzierung von Teilen des ZNS unter physiologischen Verhältnissen nicht sinnvoll und wahrscheinlich sei. Entsprechend wurden in den obengenannten Arbeiten von SCHINDLER et al. auch Hypothalamus und Cortex des Foeten vergleichend untersucht. Dabei fand sich ein statistisch signifikanter Unterschied hinsichtlich der Kapazität zur Aromatisierung von **Androstendion** zwischen beiden Geweben: Der Hypothalamus als Ursprungsort gonadotroper Releasing Factors nach Erreichen der Geschlechtsreife zeigte unter in vitro Verhältnissen höhere Umsatzraten zu Östron als Cortexgewebe (109 , 108).

RYAN et al.(1972) verwiesen auf einen Umstand, der sich auch bei der Vermittlung androgener Wirkungen am Genitaltrakt als wichtig erwies: die Existenz spezifischer Rezeptormoleküle für das vor Ort wirksame Hormon. Es fanden sich derartige Rezeptoren sowohl für Testosteron wie auch für Oestradiol in Hypothalamus, Stria terminalis, Corpus amygdaloieum sowie anderen Bereichen des lymbischen Systems. Die Aromatisierung von **Androstendion** zu Östron war in menschlichen Hypothalamus höher als im limbischen System; niedrigere Werte fanden sich im Cortex. Diese Reihenfolge entspricht wiederum dem Grad der Wichtigkeit dieser ZNS-Anteile für die sexuelle Differenzierung. Wie potent der Einfluß der Oestrogene auf diesen Prozeß ist, zeigt der Hinweis, daß die-

se bereits auf µg-Ebene ihre Wirksamkeit entfalten, während zum Beispiel die Androgene für ihre Wirkung in mg in einem Gewebe anfallen müssen (103).

In Hinblick auf den Testosteronmetabolismus in foetalen Geweben im Allgemeinen sowie auf die Frage nach der Bereitstellung von **Androstendion** in peripheren Geweben für eine evtl. Umwandlung in Östron im Speziellen soll in dieser Arbeit untersucht werden, inwieweit foetale Gewebe Testosteron zu **Androstendion** verstoffwechseln.

L.Fragestellung der vorliegenden Arbeit

Es wurde im Rahmen dieser Arbeit foetales Gewebe aus Herz, Lunge, Leber, Niere, Nebenniere, Darm, Scrotum, Labium sowie Haut verschiedener Lokalisationen mit ^{14}C-Testosteron inkubiert. Folgende Fragen wurden untersucht:

1.) Läßt sich in allen untersuchten Geweben die Aktivität von 5α-Reductase, 3β-HSD und 17β-HSD nachweisen?
2.) In welcher Höhe liegen die von den drei obengenannten Enzymen katalysierten Umsatzraten?
3.) Finden sich zwischen den untersuchten Geweben in Hinblick auf ihren Testosteronmetabolismus ggf. signifikante Unterschiede und läßt sich eine Rangfolge "steroidaktiver Gewebe" erstellen?
4.) Wie ordnen sich die Befunde dieser Untersuchung in den Zusammenhang anderer Arbeiten auf diesem Gebiet ein?

II. Durchführung der Untersuchungen

A. Vorbemerkung

Zur Untersuchung des Testosteronumsatzes in foetalen Organismen wurde Gewebe von insgesamt 21 Foeten inkubiert und der Umsatz von Testosteron zu seinen Metaboliten **Androstendion**, DHT und 5α-Androstan-3β,17β-Diol in diesen Geweben mittels einer Doppelisotopenmethode bestimmt.

Die Foeten entstammten Schwangerschaftsabbrüchen, die über einen Zeitraum von anderthalb Jahren an der Universitäts-Frauenklinik in Tübingen aus medizinischer Indikation durchgeführt wurden. Sie wurden in der Regel nach medikamentöser Weheneinleitung (Prostaglandine) ausgestoßen, in wenigen Fällen erfolgte eine operative Ausräumung, in einem Fall kam es zur spontanen Ausstoßung einer abgestorbenen Frucht.

Von jedem Foeten gelangte eine Reihe von Geweben zur Inkubation. Insgesamt wurden untersucht: Herz, Lunge, Niere, Leber, Darm, Haut von Kopf, Rücken, Bauch und Oberarm sowie scrotales und Gewebe der Labia majora.

B. Verwendete Materialien

1.) Lösungsmittel und Chemikalien

Sämtliche Reagenzien waren von analytischer Qualität. Im Einzelnen wurden verwendet:

Aqua dest.	bidest. und entmineralisiert
Äthylenglykol	Fa.Merck p.A.
Benzol	Fa.Merck p.A.
Celite	Fa.Merck p.A.
Chloroform	Fa.Merck p.A.
Cyclohexan	Fa.Merck p.A.
Diäthyläther	Fa.Merck p.A.
Dichlormethan	Fa.Merck p.A.
Dioxan	Fa.Merck p.A.
Essigsäureäthylester	Fa.Merck p.A.
Essigsäureanhydrid	Fa.Merck p.A.
Isooctan	Fa.Merck p.A.
Kieselgehl nach Stahl	Fa.Merck p.A.
Ligroin	Fa.Riedel-DeHaen AG
Methan-Druckflaschen	Fa.Messer-Griesheim GmbH
Methanol	Fa.Merck p.A.
Phosphatpuffer pH 7,4	(aus 9,596 g di-Natriumhydrogenphosphat-2-hydrat und 1,743 g

	KH_2PO_4 mit Aqua dest. auf 1000 ml aufgefüllt - SCHINDLER 1972 105)
POPOP (Permafluor TM 25x)	Fa.Packard
Pyridin	Fa.Merck p.A.
Stickstoff-Druckflasche	Fa.Messer-Griesheim GmbH
Toluol	Fa.Merck p.A.
Glucose-6-Phosphat	Fa.Boehringer
Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase	Fa.Boehringer
$NADPH^+$	Fa.Boehringer
$NADP^+$	Fa.Boehringer

2.)Kristalline Steroide

Als Standard- und Referenzsteroide - in Methanol gelöst bei der Dünnschichtchromatographie (s.u.) und in kristalliner Form bei der Kristallisation (s.u.) - wurden verwendet:

5α-Androstan-3on,17β-ol (DHT) (für die Kristallisation als Acetat)
5α-Androstan-3β,17β-Diol (für die Kristallisation als Diacetat)
4-Androsten-3,17-Dion **(Androstendion)**

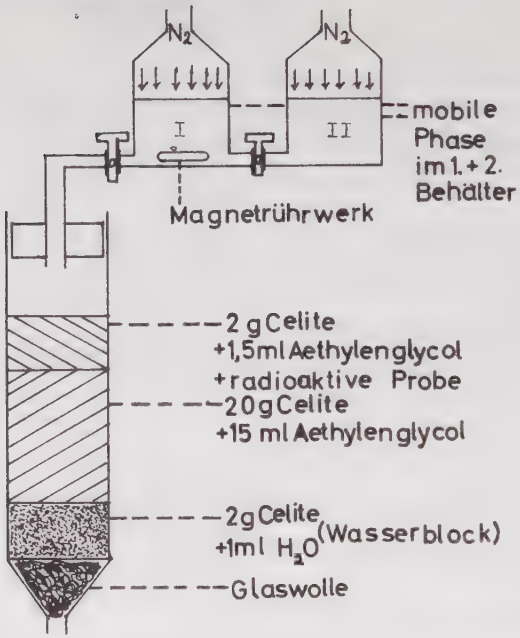
Die Steroide wurden bezogen von der Fa.Steraloids Inc., Wilton, N.H., Pauling, N.Y.

3.)Radioaktive Steroide

4-^{14}C-Testosteron	spez.Aktivität: 53,3 mCi/mmol
5α-[1α,2α(n)-^{3}H]Androstan-3β,17β-Diol	spez.Aktivität: 51 Ci/mmol
5α-Dihydrotestosteron-[1α,2α(n)^{3}H]	spez.Aktivität: 40 000 - 60 000 mCi/mmol
[1,2,6,7(n)-^{3}H]Androst-4-en-3,17-Dion	spez.Aktivität: 80 000-110 000 mCi/mmol

Die radioaktiven Steroide wurden vom Radiochemical Centre Amersham bezogen. Sie wurden vor Gebrauch in der Gradientenelutionssäule (Celitesäule) gereinigt: In die nach Abbildung 8 vorbereitete Säule wurden 50 ml Isooctan gegeben; weitere 100 ml Isooctan flossen aus Gefäß I unter leichtem N_2-Überdruck nach. Es folgten durch ein zugeschaltetes Rührwerk vermischt aus Gefäß I 350 ml Isooctan und aus Gefäß II 350 ml Äthylacetat, ebenfalls unter leichtem N_2-Überdruck.

Abbildung 8:
modifizierte
Gradientenelutionssäulenchromatographie



(nach Pflüger, 1973 96)

Das solchermaßen eluierte Steroid - in Abbildung 8 z.B. ^{14}C-Testosteron - wurde in Fraktionen von ca. 10 ml vom automatischen Fraktionssammler aufgefangen und die Aktivität jeder 2.Fraktion im Counter bestimmt. Nur die Fraktionen mit maximaler Aktivität wurden weiter verwendet. Das gereinigte Steroid wurde eingedampft und in 100 ml Methanol gelöst. Nachdem die Aktivität von 1/1000 des in Methanol gelösten Steroids bestimmt worden war, folglich 1 ml Lösung einer genau definierten Aktivität radioaktiven Steroids entsprach, konnte im Folgenden mit genau quantifizierbaren Mengen von Radioaktivität gearbeitet werden.

4.)Verwendete Geräte und Hilfsmittel

Eppendorf-Pipetten	
Eppendorf-Pipettenspitzen	
Halbmikroanalysenwaage Typ B6	Fa.Mettler
Homogenisator	Fa.Bühler
Gradientenelutionssäule	
Automatischer Fraktionssammler Serva-Linear II	
Kristallisationsgläschen Jenaer Glas Fiolax	
Liquid Scintillations Spectrometer "Tri-Carb" mit angeschlossenem	
Absolute Activity Analyser	Fa.Packard
Pasteur-Pipetten 230 mm Gr.B.	Fa.Brand
Plattenbeschichtungsapparat	Fa.Desaga GmbH.
Polyäthylenzählgläschen	Fa.W.Zinser
Rotationsverdampfer Typ rV	Fa.Bühler
Scanner II mit	
Ratemeter Integrator	Fa.Berthold
Schüttelbad	
Sprühgerät f.d. Dünnschichtchromatogrphie	Fa.Desaga GmbH

5.)Messung der Radioaktivität

Die Radioaktivitätsmessung in Anschluß an die Kristallisation wurde mit Hilfe des Tri-Carb-Liquid-Scintillations Spectrometer (Packard Modell 3380 mit angeschlossenem Absolute Activity Analyser Modell 544) durchgeführt. Die Proben wurden zuvor in Polyäthylengläschen übertragen, eingetrocknet und anschließend in 15 ml Scintillationsflüssigkeit gelöst. (Als Scintillationsflüssigkeit diente eine Mischung aus 40 ml Permafluor TM 25x und 960 ml Toluol). Nach Temperaturausgleich wurden dann die Proben jewels dreimal für je 5 Minuten

gezählt.

Die Lokalisation der radioaktiven Steroide auf den Dünnschichtchromatographieplatten erfolgte durch den Dünnschichtscanner II (Fa.Berthold) an Hand der durch Linearschreiber aufgezeichneten Radioaktivitätsmaxima. (vgl.Abbildung 9)

6.)Kurzgefaßte Indikationen

An dieser Stelle seien in Kürze die Indikationen angegeben, aus denen heraus bei den jeweiligen Patientinnen Schwangerschaftsabbrüche vorgenommen wurden.

Gü (214/76) 8.SSW
♂Foet: SSL: 10,5 cm
SFL: 15 cm
psychiatrische Indikation

Ra (824/75) 10.SSW
♂Foet: SSL: 11 cm
SFL: 16 cm
Uterus myomatosus; Varikosis im re. Adnexenbereich

Hü (998/75) 11.SSW
♂Foet: SSL: 9 cm
SFL: 12 cm
Z.n.zweimaliger Sectio; Harninkontinenz I-II

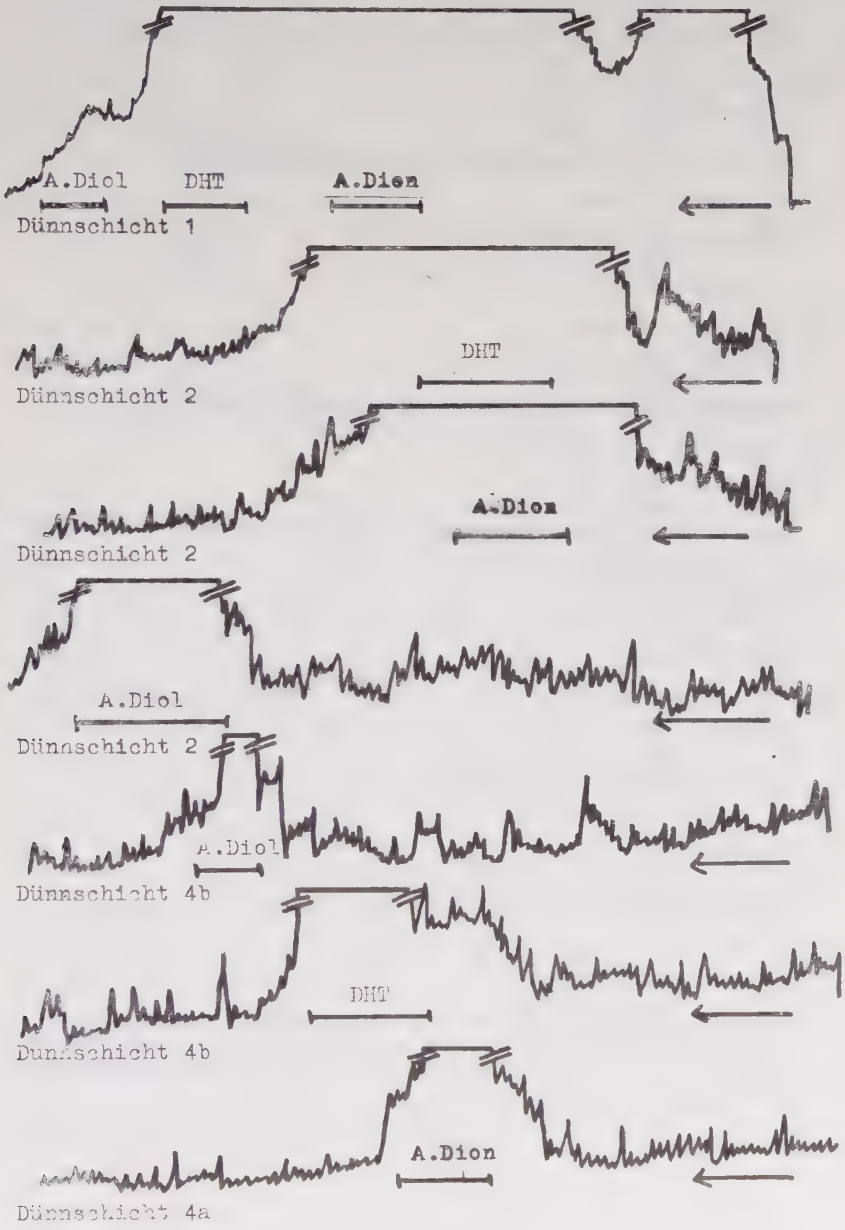
Fr (133/76) 12.SSW
♂Foet: SSL: 6 cm
SFL: 8 cm
Uterus myomatosus

Li (950/75) 12.SSW
♂Foet: SSL: 7,5 cm
SFL: 9,5 cm
Rötelninfektion der Mutter

Dü (966/76) 13.SSW
♂Foet: SSL: 6,5 cm
SFL: 9,0 cm
Psychiatrische Indikation

Tr (971/75) 14.SSW
♂Foet: SSL: 7,5 cm
SFL: 10 cm
Descensus uteri et vaginae, Portioektopie, Entwicklung einer urthrovaginalen Fistel, li.Harnleiterstenose

Abbildung 9: Dünnschichtchromatographie - Beispiel Dünnschicht 1, 2, 4a und 4b (Go, Foet♂ , Nebennierengewebe)



Ei (905/75) 14.-15.SSW

♀ Foet: SSL: 16,5 cm
SFL: 23,5 cm
Rötelninfektion der Mutter

Schmi (1474/75) 15.SSW

♂ Foet: SSL: 7,5 cm
SFL: 10 cm
Einseitige Restniere mit chron.Pyelonephritis

Ki (.../76) 15.SSW

♂ Foet: SSL: 11,0 cm
SFL: 15,5 cm
Z.n.Hepatitis

Ep (748/76) 15.SSW

♂ Foet: SSL: 11 cm
SFL: 17 cm
Psychiatrische Indikation (depressive Zustände)

Go (1098/75) 18.SSW

♂ Foet: SSL: 12 cm
SFL: 18 cm
Abortus incipiens febrilis, Blutung seit 3 Wochen

Tu (.../76) 18.SSW

♂ Foet: SSL: 15 cm
SFL: 21 cm
Spontanabort

Mo (879/75) 19.-20.SSW

♂ Foet: SSL: 19 cm
SFL: 23 cm
Rötelninfektion der Mutter

Mü (.../76) 22.SSW

♀ Foet: SSL: ?
SFL: ?
Rötelninfektion der Mutter

Sa (.../76) 23.24.SSW

♀ Foet: SSL: 19,5 cm
SFL: 28,5 cm
Bereits zwei Aborte; jetzt: vorzeitiger Blasensprung, grünes Fruchtwasser, Placenta folgt zerrissen; Nachcurretage ergibt Befund eines markstückgroßen Myoms li.Uteruskante

La (146/76) 24.SSW

♂ Foet: SSL: 20,0 cm
SFL: 28,5 cm
Cervixinsuffizienz, Spontanabort

Gn (1200/75) 24.SSW

♂ Foet: SSL: ?
SFL: 34 cm
Vorzeitiger Blasensprung, Spontanabort

Se (212/76) 25.SSW

♀ Foet: SSL: ?
SFL: ?
Uterus bicornis

Schme (145/76) 36.SSW

♂ Foet: SSL: ?
SFL: 48 cm
abgestorbene Gravidität, seit 4 Tagen keine Herztöne mehr hörbar; Maceration II.Grades

C. Vorbereitung der Versuche

Für jedes zu inkubierende Gewebe wurde wie folgt ein Ansatz hergestellt: In einem 100 ml Erlenmeyerkolben wurde eine 1,7 Mio dpm entsprechende Menge von in Methanol gelöstem ^{14}C-Testosteron pipettiert, eingedampft und anschließend wieder in 10 ml Äthylacetat gelöst. 0,1 ml dieser Lösung (im Folgenden kurz als "1/100" bezeichnet) wurden nach gründlichem Umschütteln entnommen, in ein Polyäthylenzählgläschen pipettiert, eingetrocknet und bis zur Bestimmung der Radioaktivität im Kühlschrank verwahrt.

Mit diesem 1/100 war für jeden einzelnen Ansatz die genaue Ausgangskapazität des hinzugefügten ^{14}C-Testosteron gegeben; es bildete den Ausgangspunkt für die spätere Berechnung der Umwandlungsrate (s.u.)

Die im Erlenmeyerkolben 9,9 ml gelösten Steroids wurden unter Stickstoffventilation wieder eingedampft.

Außerdem wurde jedem Ansatz ein Reaktionssystem zugesetzt, welches das bei der 5α-Reduktion von Testosteron benötigte

wasserstoffion an energiereiche Phosphate gebunden immer auf's Neue bereitstellte: 50 mg $NADP^+$ und 25 mg $NADPH^+$ sowie als Substrat Glucose-6-Phosphat. Erst unmittelbar vor der Inkubation wurden 0,15 ml Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase hinzugefügt, die das Glucose-6-Phosphat in Gluconsäurelacton-6-Phosphat überführt. Bei dieser Reaktion wird pro umgewandeltes Molekül ein Wasserstoffion frei.

Damit war die Herstellung der Ansätze beendet. Sie wurden bis zur Inkubation im Kühlschrank verwahrt.

D.Inkubation

Die Foeten gelangten i.d.R. unmittelbar nach der Ausstoszung zur Inkubation. Die Organe, deren Gewebe inkubiert werden sollte, wurden sorgfältig freipräpariert und Gewebestücke entnommen. Für den Ansatz wurde mit Hilfe einer Halbmikroanalysenwaage 100 mg (Feuchtgewicht) abgewogen und nach Zugabe von 10 ml zum Schutz vor Überwärmung gekühltem Phosphatpuffer bei ca. 4000 U/min homogenisiert. Das Homogenat wurde in einen der vorbereiteten Ansätze gegeben. Vor der Verarbeitung eines weiteren Gewebes wurden die Messer des Homogenisators zweimal mit Phosphatpuffer gespült. Waren alle gewünschten Gewebeproben aus einem Foeten entnommen und verarbeitet, wurden die Ansätze mit dem Homogenat im Schüttelbad bei 37^0 C und unter Lufteintritt für 4 Stunden inkubiert. Exakt nach Ablauf dieser Zeit wurden die Ansätze aus dem Schüttelbad entnommen und die Inkubation durch Zugabe von 50 ml Äthylacetat pro Ansatz gestoppt.

E.Interner Standard

Um die im weiteren Verlauf der Gewinnung und Reinigung der radioaktiven Steroide zwangsläufig auftretenden Verluste später bei der Ausrechnung der Umwandlungsrate berücksichtigen zu können, wurde unmittelbar in Anschluß an das Abstoppen der Inkubation den Ansätzen ein Interner Standard zugefügt. Da die Testosteronmetabolite DHT, 5α-Androstan-3β,17β-Diol und Androstendion aufgesucht und isoliert werden sollten,

wurden die entsprechenden ^{3}H-markierten Steroide in genau definierter Menge (je nach der zuvor in der Gradientenelutionssäule gereinigten Charge zwischen 1,8 und 2,0 Mio dpm) zu jedem Ansatz zugegeben. Aus den dpm der anfangs zugegebenen ^{3}H-dpm konnte nach Abschluß der Verarbeitung dann Verlust bzw. Wiederauffindungsrate für jedes Steroid und für jeden einzelnen Versuch berechnet werden.

F.Extraktion und Kaltstandard

Die Extraktion der Steroide aus der wässrigen Phase der Ansätze erfolgte durch dreimaliges zweiminütiges Ausschütteln mit jeweils 50 ml Äthylacetat in Schütteltrichtern mit Teflonhähnen. Die Steroide lösten sich aus dem Gewebe, gingen in die Äthylacetatphase über und konnten separat in Rundkolben aufgefangen werden.

Der Inhalt dieser Rundkolben wurde anschließend mit Hilfe eines Rotationsverdampfers eingetrocknet. Nach erneuter Zugabe einer kleinen Menge Äthylacetats und sorgfältigem Umschütteln konnten die erneut gelösten Steroide mit Hilfe von Pasteurpipetten in dickwandige Reagenzgläser übertragen werden. Jedem Ansatz wurde für die darauffolgende Dünnschichtchromatographie jeweils ca.20 mg nichtradioaktives DHT, **Androstendion** und 5α-Androstan-3β,17β-Diol als Referenzsteroid (s.u.) hinzugegeben. Der Inhalt des Reagenzglases wurde dann unter Stickstoffventilation eingedampft.

G.Acetylierung

Vor der Dünnschichtchromatographie wurden die Steroide im Reagenzglas acetyliert, d.h. ein Acetylrest wurde an freie Hydroxylgruppen angekoppelt, so z.B. an die 3β- und die 17β-OH-Gruppe des Androstan-Diols und an die 17β-OH-Gruppe des DHT. Die beiden Ketogruppen des **Androstendion** banden keinen Acetylrest.

Durch diesen Schritt wurde die Wanderungsgeschwindigkeit der Steroide in dem jeweiligen Dünnschichtsystem verändert.

Die Ankoppelung polarer Acetylreste verstärkt die Bindung an die mobile Phase - entsprechend wurden die so vorbehandelten Steroide weiter "mitgenommen". In Vorversuchen zu der vorliegenden Arbeit war z.B. festgestellt worden, daß o h n e vorherige Acetylierung Testosteron und seine drei Metabolite DHT, 3β,17β-Diol und Androstendion sich in der Dünnschichtchromatographie folgendermaßen entwickelten: Androstendion "wanderte" am weitesten, es folgten DHT und Testosteron und zuletzt 5α-Androstan-Diol. Diese Reihenfolge war bei verschiedenen organischen Fließmitteln und entsprechenden unterschiedlichen Rf-Faktoren immer die gleiche. Wurden die vier Steroide jedoch zuvor acetyliert, ergab sich ein anderes Bild. Charakteristischerweise lag dann das Diol, das die meisten Acetylreste zu binden vermochte, vorne, es folgten DHT und Testosteron, dann erst das Androstendion. Diese Reihenfolge war gerade in Hinblick auf die zahlreiches Stereoisomere des Diols von Vorteil, die sich über die längere Laufstrecke getrennt voneinander entwikkeln und somit auch besser von dem hier interessierenden 3β,17β-Diol getrennt werden konnten.

Die Acetylierung erfolgte jeweils mit 0,5 ml Pyridin und 0,5 ml Essigsäureanhydrid für 18 Stunden. Anschließend wurde das Reagens im erhitzten Wasserbad (ca. 70° C) unter Vakuum wieder eingedampft.

H.Dünnschichtchromatographie

Mittels der Dünnschichtchromatographie wurden das unverstoffwechselte Testosteron sowie seine Metabolite voneinander getrennt und Verunreinigungen eliminiert. Dank der als Kaltstandard zugegebenen Referenzsteroide konnten die zu untersuchenden Metabolite isoliert und gereinigt werden.

Die für die Chromatographie verwendeten Glasplatten wurden vor der Beschichtung mit Diäthyläther gereinigt. 40 g Kieselgel und 80 ml Aqua dest. wurden im Erlenmeyerkolben vermischt und mit dem Beschichtungsapparat nach Stahl der

Firma Desaga auf jeweils 5 Platten aufgetragen. Die Platten wurden bei Zimmertemperatur getrocknet und anschließend im Trockenofen bei 110° C aktiviert.

Die eingetrockneten Steroide im dickwandigen Reagenzglas wurden mit wenigen Tropfen Äthylacetat gelöst, umgeschüttelt und mit Pasteurpipetten möglichst kleinflächig in Höhe der Startlinie unter Heißluftzufuhr auf die Kieselgelplatten aufgetragen. Die Reagenzgläser wurden noch zweimal mit wenigen Tropfen Äthylacetat nachgespült und die Lösung jeweils an gleicher Stelle auf die Platten gegeben. Auf diese Weise war gewährleistet, daß ein Maximum an Steroiden zur Chromatographie kam.

Die Platten wurden in verschließbare Glasbehälter gestellt, in die zuvor 200 ml des entsprechenden Fließmittelsystems gegeben worden waren. Folgende Systeme wurden nacheinander verwendet:

Dünnschicht 1: Isooctan 130 ml und Äthylacetat 70 ml
Dünnschicht 2: Chloroform 200 ml
Dünnschicht 3: Chloroform 195 ml und Äthylacetat 15 ml
Dünnschicht 4a: Dichlormethan 190 ml und Dioxan 10 ml
(nur für Androstendion)
Dünnschicht 4b: Benzol 180 ml und Äthylacetat 20 ml
(für DHT und Androstan-Diol)

Alle Dünnschichten - mit Ausnahme von Dünnschicht 4b - wurden zweimal entwickelt, d.h. nachdem das Fließmittel an die obere Begrenzung gelangt war, wurde es mit Heißluft abgedampft und die Platte erneut in den Glasbehälter mit Fließmittel gestellt.

war eine Dünnschicht abgeschlossen, wurden die Platten zunächst getrocknet. Dann wurde mit Hilfe des Scanners ein Chromatogramm aufgezeichnet (vgl.Abbildung 9), wobei die Lokalisation der Aktivitätsmaxima mit der Lokalisation der nichtradioaktiven Kaltstandarde verglichen wurde. Diese ließen sich durch Besprühen der Platte mit Aqua dest. darstel-

len; sie zeigten sich dann als weiße Flecke auf der Platte.

Dünnschicht 1 diente der Trennung der drei zu untersuchenden Metabolite; entsprechend ihren Rf-Faktoren wanderten sie verschieden weit mit der mobilen Phase des Dünnschichtssystems. Mit Pasteurpipetten wurden die Bereiche, in denen die Referenzsteroide sichtbar gemacht worden waren, umfahren und mit in Alkohol gereinigten Rasierklingen sorgfältig von der Platte gekratzt. Die Metabolite des Testosterons - an das abgekratzte Kieselgel gebunden - wurden jedes für sich in eine Glasfritte gefüllt und mit Äthylacetat eluiert. Die entstandenen Eluate wurden für die weitere Bearbeitung unter Stickstoffventilation eingetrocknet.

Dünnschicht 2-4 dienten der weiteren Reindarstellung der Steroide. Hier liefen die in Dünnschicht 1 getrennten Metabolite jeweils für sich in einem Dünnschichtsystem.

I.Entnahme des "1/20"

Nach Abschluß der vier Dünnschichtchromatographien wurde das Eluat in 10 ml Äthylacetat gelöst, 0,5 ml ("1/20") in ein Polyäthylenzählgläschen überführtund beide Fraktionen unterHeißluft eingetrocknet. Dieses 1/20 der gereinigten Steroide diente später der Berechnung der Wiederauffindungs- und der Umwandlungsrate. (s.u.)

J.Kristallisation zu konstanter $^{3}H/^{14}C$-Ratio

Das unter Stickstoffventilation erneut eingedampfte Eluat wurde mit drei kleinen Portionen Äthylacetat in ein Kristallisationsgläschen übertragen und anschließend wieder eingedarpft. Es wurden jeweils eine Spatelspitze des jeweiligen nichtradioaktiven Referenzsteroids in kristalliner Form hinzugefügt, also 5α-Androstan-3β,17β-Diol-Diacetat, DHT-Acetat und **Androstendion** (letzteres hatte ja bei der Acetylierung keine Acetylreste angelagert).

Die Steroide wurden im Wasserbad bei ca. 90° C in Methanol vollständig gelöst und bei Zimmertemperatur dreimal

auskristallisiert: Dabei wurden für jede Kristallisation jeweils einige Tropfen einer organischen Lösung zugegeben.
Kristallisationssysteme:

1.System: Methanol und 3-4 Tropfen Äther
2.System: Methanol und 3-4 Tropfen Ligroin
3.System: Methanol und 3-4 Tropfen Cyclohexan

Die Grenzflächen zwischen dem Methanol und der zugegebenen organischen Substanz wirkten als Anregung zur Kristallisation. Diese dauerte zwische 2 und 48 Stunden. Im Kristall waren dann kaltes Referenz- und radioaktives Steroid miteinander verbunden.

Die "Mutterflüssigkeit", der flüssige Überstand über dem Kristall, wurde in ein Polyäthylenzählgläschen pipettiert und eingetrocknet. Von dem Kristall wurde ein kleiner Teil entnommen und in ein weiteres Zählgläschen gegeben, der Rest wurde der nächsten Kristallisation zugeführt (erneute Lösung mit dem Referenzsteroid in Methanol, Zugabe der entsprechenden organischen Lösung, Kristallisation). Am Ende lagen jeweils eine Mutterflüssigkeit (MF) und ein Kristall (Kr) - beides unter Heißluft getrocknet - aus drei Kristallisationsgängen in Zählgläschen vor.

Es wurden jeweils 15 ml Szintillationsflüssigkeit zugegeben, die Temperatur der Proben auf 3-6° C im Kühlschrank gesenkt und anschließend dreimal für 5 Minuten die Radioaktivität, d.h. die $^{14}C/^{3}H$-Ratio im Counter gemessen.

K.Berechnung der Umwandlungsrate

Die Umwandlungs rate gibt an, wieviel Prozent des inkubierten ^{14}C-Testosterons in den jeweiligen Metaboliten umgewandelt wurde; sie ist ein direktes Maß für die Aktivität des entsprechenden Enzyms bzw. Enzymsystems im inkubierten Gewebe. Der Berechnung der Umwandlungsrate lag folgende Rechnung zugrunde:

$$\frac{\text{Aktivität des inkubierten } ^{14}C\text{-Testosterons}}{\text{Aktivität des isolierten } ^{14}C\text{-Metaboliten}} \times 100 = \text{Umwandlungsrate}$$

Ähnliche Berechnungen waren bereits von SCHINDLER (1972 [106]) vorgenommen worden. Sie wurden für die vorliegende Arbeit in der folgenden Weise modifiziert:

1.) Wiederauffindungsrate (WAR)

Die WAR konnte mittels des anfangs den inkubierten Ansätzen zugefügten ^{3}H-markierten Internen Standards berechnet werden. Was von diesem nach Verarbeitung der Probe "übriggeblieben" war, fand sich als ^{3}H-markierter Anteil im 1/20 (s.o.). Entsprechend ließ sich berechnen, wieviel von dem inkubierten radioaktiven Material wiederaufgefunden wurde:

$$\frac{^{3}H\text{-markierter Anteil des 1/20 dpm} \times 20}{\text{Interner Standard dpm}} \times 100 = \text{WAR}$$

2.) Totale ^{14}C

Um die methodisch bedingten Verluste (durch Eluierung, Übertragung in der Dünnschichtchromatographie etc.) an radioaktiven Material nicht in die Berechnung der Umwandlungsrate miteingehen zu lassen, mußte die absolute Zahl der dpm ^{14}C-markierten Materials ermittelt werden, die sich ohne solche Verluste ergeben hätten. Dies erfolgte mit Hilfe der WAR:

$$\frac{^{14}C\text{-markierter Anteil des 1/20 dpm} \times 20}{\text{WAR}} \times 100 = \text{totale } ^{14}C$$

3.) Korrekturfaktor (KF)

Erst wenn sich die $^{3}H/^{14}C$-Ratio von einer Kristallisation zur anderen nicht mehr verschob, also eine konstante spezifische Aktivität erreicht worden war, konnte davon ausgegangen werden, daß das Steroid im Kristall in der gewünschten reinen Form dargestellt worden war. Diese konstante spezifische Aktivität stellte sich nicht immer sofort von der ersten auf die zweite Kristallisation ein. Speziell beim Diol konnte man erst bei der dritten Kristallisation eine Reindarstellung annehmen - auch hier wieder infolge zahlreicher Isomere, die während der Dünnschichtchromatographie nicht vollständig abgetrennt werden konnten. Da die Umwandlungsrate mit dem ^{14}C-Anteil des 1/20 berechnet wurde , mußte die-

ser Wert um den Faktor verringert werden, um den die konstante spezifische Aktivität der 3.Kristallisation gegenüber dem 1/20 abgenommen hatte:

$$\frac{^3H/^{14}C\text{-Ratio der 3.Kristallisation}}{^3H/^{14}C\text{-Ratio des 1/20}} = KF$$

4.) Umwandlungsrate (UR)

Die Umwandlungsrate konnte anschließend leicht aus der bekannten Menge inkubierten ^{14}C-Materials dieses war mittels des bei der Vorbereitung der Ansätze (s.o.) abgezweigten 1/100 bestimmt worden - und den um den um den Korrekturfaktor korrigierten totalen ^{14}C berechnet werden:

$$\frac{^{14}C \text{ dpm} \times KF}{^{14}C\text{-Anteil des 1/100 dpm}} = UR$$

5.) Beispiel

Umwandlungsrate von Testosteron zu **Androstendion** im foetalen Scrotum (Gü, ♂Foet, 214/76). Folgende Werte sind bekannt:

Interner Standard (4-Androstan):	2 030 122 dpm
1/100 des anfangs inkubierten ^{14}C-Testosteron:	32 538,266 dpm
Nach der Dünnschichtchromatographie entnommenes 1/20	
^{14}C- 4-Androstan	933,333 dpm
^3H- 4-Androstan	17 228,833 dpm
$^{14}C/^3H$-Ratio des 1/20	0,05417
$^{14}C/^3H$-Ratio der 3.Kristallisation	0,04478

Wiederauffindungsrate: $\frac{17228,833 \times 20}{2030122} \times 100 = 16,9732\ \%$

Totale ^{14}C : $\frac{933,33 \times 20}{16,9732} \times 100 = 10977,29$ dpm

KF : $\frac{0,04478}{0,05417} = 0,8267$

Umwandlungsrate : $\frac{109977,29 \times 0,8267}{32538,266} = 2,7941\ \%$,

d.h. 2,7941 % des inkubierten ^{14}C-Testosteron wurden durch die im foetalen Scrotum enthaltene 17β-HSD in **Androstendion** umgewandelt.

L. Statistische Auswertung

Es wurden durchweg einfache Varianzanalysen durchgeführt. Als Signifikanzniveau wurde $\alpha = 0,05$ verwendet. Den klassischen Varianzanalysen wurde zur Beurteilung der Varianzgleichheit der Bartlett-Test vorgeschaltet. Zeigten sich bei den Varianzen signifikante Unterschiede, so wurde bei allen Meßwerten eine logarithmische Transformation vorgenommen. Anschließend wurden wieder klassische Varianzanalysen durchgeführt. Falls der Bartlett-Test nach logarithmischer Transformation noch Signifikanz zeigte, wurden in den Varianzanalysen nur sukzessive Paarvergleiche mit Hilfe von F-Test, T-Test und Welch-Test ausgeführt. Bei der möglichen Auswertung der Varianzanalysen wurden zur simultanen stochastischen Beurteilung der Scheffé-Test verwendet.-

Wegen stark unterschiedlicher Streuungen mußte teilweise auf Simultanvergleiche verzichtet werden. Es konnte daher bei den Mittelwerten nur paarweise Sukzessivvergleiche mit Hilfe von Welch-Testen angewendet werden. Es muß jedoch daraufhingewiesen werden, daß beim Bartlett-Test eine große Empfindlichkeit gegen Abweichungen von der Normalverteilung vorhanden und der Welch-Test bei Anwendung auf geringe Versuchszahlen $n_1 + n_2 + \ldots + n_x < 20$ nicht trennscharf ist.

III.Testosteronumsatz in foetalem Gewebe

A.Haut

1.) Literaturnachweis

Es ist seit längerem bekannt, daß das Hautorgan in der Lage ist, Steroide zu verstoffwechseln. HSIA und HAO (1966 60) wiesen die Metabolisierung von Cortison und Cortisol, GOMEZ und HSIA (1968 45) die von Testosteron und FROST et al. (1969 37) die von Progesteron in der Haut nach. Bereits während der foetalen Entwicklung ist die Haut an der Elimination der Steroide aus dem Fruchtwasser beteiligt (SCHINDLER 1972 105). Die Ausbildung eines geschlechtsspezifischen Behaarungstyps und eine Verstärkung der exkretorischen Drüsenfunktionen der Haut im Gefolge der Pubertät waren Hinweis dafür, daß das Hautorgan auf die Steroide vom Typ der Androgene reagiert und folglich genau wie z.B. die Teile des foetalen männlichen Fortpflanzungsapparats (Wolff'scher Gang, Rete testis, äußere Genitale) als Zielorgan der männlichen Sexualhormone bezeichnet werden kann.

Bei genauer Betrachtung muß diese Aussage allerdings in mehrfacher Hinsicht differenziert werden: So unterliegen z.B. nicht alle Behaarungszonen androgener Kontrolle. Bartwuchs, Wuchs der Haare in Ohr und Nase, die Behaarung des sog.oberen Schamdreiecks und die des Rumpfes hängen bei Männern sicher vom Spiegel der zirkulierenden Androgene ab, ebenso wie die Achselbehaarung und die des sog.unteren Schamdreiecks durch den sich in der Pubertät massiv erhöhenden Testosteronspiegel bedingt sind. Andererseits sind Lanugo-Haare, Wimpern und Augenbrauen sicher androgenunabhängig (SCHWEIKERT et WILSON,1974 115). Es muß also sinnvollerweise nach der Topographie differenziert werden.

Zweitens ist zu beachten, daß die "Haut" nicht als solche die Fähigkeit besitzt, Androgene zu verstoffwechseln, vielmehr ist diese Fähigkeit auf ganz bestimmte Strukturen in der Haut einzugrenzen. Die Differenzierung des Hautorgans in Epider-

mis, Dermis, subcutanem Fettgewebe, Haarbälge, Schweiß- und Talgdrüsen - wobei insbesondere letztere als androgenabhängig galten - führte zu Untersuchungen über den Androgenstoffwechsel in Hautzonen, in denen einzelne dieser Untereinheiten, besonders stark vertreten sind. GOMEZ et al. (1974 47) untersuchten das Flankenorgan des Hamsters, einem besonders talgdrüsenreichen Areal, und fanden eine viermal höhere Umsetzung von ^{14}C-Testosteron zu DHT bei gleicher durchschnittlicher Zellzahl pro Gewichtseinheit (gemessen am DNS-Gehalt) als in weniger talgdrüsenreicher Kontrollhaut. 5α-Androstan-3α,17β-Diol wurde ebenfalls - um den Faktor 4,5 - mehr gebildet, umgekehrt fiel das **Androstendion** in der Kontrollhaut dreimal mehr an als im Flankenorgan. TAKAYASU und ADACHI (1972 133) bestätigten DHT als Hauptmetaboliten des Testosteronumsatzes in den Talgdrüsen des Hamsters. Die Abnahme der DHT-Bildung nach Kastration der Tiere, die wiederum durch die Abnahme des protonenliefernden Cofaktors bedingt war, führte die Autoren zu der Annahme, daß die Talgdrüsen des Hamsters Zielorgane des Testosterons sind.- Der Untersuchung des Testosteronstoffwechsel der Haarfollikel als einer weiterern Substruktur des Hautorgans wandten sich TAKAYASU und ADACHI (1972 132) zu. Sie wiesen die Aktivität der 5α-Reductase in menschlichen Haarfollikeln von Kopfhaut, Bart, Achsel-, Brust- und Schambehaarung sowie von Armen und Beinen nach. Dieses Enzym bewirkte in der anagenen Phase des Haares 3-8mal höhere Umsatzraten zu DHT als in der telogenen. Im Vergleich zu diesen Befunden ergab sich bei FAZEKAS und SANDOR (1972 35) nach Inkubation von markiertem Testosteron in erster Linie **Androstendion** als Hauptmetabolit in den Haarfollikeln von Kopf-, Bart- und Schamhaaren; ebenfalls fanden sich, allerdings mit niedrigeren Umsatzraten, 5α-Androstan-Dion und DHT.Letzteres wiederum fand sich vor allem in Inkubationen mit Barthaarfollikeln. Interessant ist der Hinweis auf das Ansteigen der Glucose-6 P -Dehydrogenase in der anagenen Phase - ein Indiz für die erhöhte Stoffwechselaktivität der Follikelzellen zu diesem Zeitpunkt.

Dieses Enzym ist im Pentosephosphatzyklus verankert, durch dem über das Ribose-5 Ⓟ die DNS-Synthese beeinflußt wird (BÜDDECKE,1972 15). Gleichzeitig werden aus diesem Bereich des Glucosestoffwechsels die Protonendonatoren z.B. als Coenzyme der 5α -Reductase bereitgestellt.- Weitergehende Untersuchungen haben gezeigt, daß hinsichtlich des Androgenmetabolismus der Haut noch weiter differenziert werden muß zwischen einzelnen Zelltypen sowie Strukturen in der Zelle selber: PINSKY et al. (1974 97) untersuchten menschliche Fibroblasten auf die Aktivität der 5α -Reductase un der 17β -HSD hin. Das inkubierte ^{14}C-Testosteron fand sich bei Männern bzw. Frauen verstoffwechselt zu **Androstendion** zu 10 bzw. 10,8%, zu DHT zu 9,5 bzw. 14,1% und zu 5α -Androstan-3α ,17β -Diol zu 26 bzw. 21% - ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den beiden Geschlechtern speziell auch in Hinblick auf das Verhältnis der 17-oxo- und 17 -Hydroxy-Steroide ergab sich dabei nicht.- Auf zellulärer Ebene konnten VOIGT et al.(1970 145) bei der Vorhaut Neugeborener die Aktivität der 5 -Reductase in der Mikrosomenfraktion des Homogenats nachweisen.- Ebenfalls auf der zellulären Ebene konnte in der bereits genannten Arbeit von FAZEKAS und SANDOR (1972 35) zwei DHT-bindende Makromoleküle im Cytosol von Haarfollikelzellen nachgewiesen werden. Auf die Bedeutung derartiger Rezeptoren für die biologische Wirkung der Androgene wurde bereits in der Einleitung hingewiesen.

Eine dritte Differenzierung den Androgenstoffwechsel der Haut betreffend ist zu machen im Hinblick darauf, welches nun eigentlich das vor Ort wirksame Androgen ist. BRUCHOVSKY und WILSON (1968 13) hatten mit ihrer Arbeit über den Testosteronstoffwechsel in der Rattenprostata die Aufmerksamkeit auf das DHT als eigentlichem, vor Ort wirksamen Androgen gelenkt. In diesem Punkt folgen auch einige der bereits genannten Autoren und vermuten im DHT das biologisch aktive Hormon - so in den Talsdrüsen des Hamsters (GOMEZ et al., 1974 47 , TAKAYASU et ADACHI,1972 133) und in menschlichen

Haarfollikeln (TAKAYASU et ADACHI,1972 132). Zumindest letzterem wird widersprochen durch SCHWEIKERT und WILSON (1974 115), die bei der Untersuchung von Haarfollikeln verschiedener Kopfregionen sowie von Axilla, Scham, Bauch, Brust, Arm und Bein zwar 5α-reduzierte und 17-oxo-Steroide als Hauptmetabolite des Testosteron fanden. Es fand sich jedoch kein Unterschied in der Bildung von DHT oder 5α-Androstan-Dion 1.)zwischen Kopf- und Scharbehaarung und 2.) zwischen männlichen und weiblichen Haarfollikeln der gleichen Region. Wiewohl damit ein ubiquitäres Vorkommen der 5α-Reductase in den Haarfollikeln festzustehen scheint, so muß doch der mit Sicherheit in einigen Körperregionen androgenabhängige Haarwuchs auf einer anderen Ebene gesteuert werden als auf der der Bildung des DHT. Klinisch interessant ist der Hinweis, daß die Haarfollikel von der Kopfhaut glatzenbildender Männer Testosteron in beide Richtungen - zu 5α-reduzierten und 17-Keto-Steroiden - in stärkerem Ausmaß verstoffwechseln als entsprechende Haarfollikel von Frauen bzw. Männern mit normalem Haarwuchs.- Zu ähnlichen Schlüssen kommen dieselben Autoren bei der Untersuchung des **Androstendion**-Stoffwechsel menschlicher Haarfollikel (SCHWEIKERT et WILSON, 1974 116). Wieder werden Haarfollikel der obengenannten Regionen inkubiert und es findet sich bei allen die Fähigkeit **Androstendion** in Testosteron umzusetzen. Dabei sind die Umsatzraten bei telogenen Haaren - wie bereits auch in der erstgenannten Arbeit der beiden Autoren - allgemein niedriger, ein Hinweis auf ruhenden Stoffwechsel in dieser Phase. - Das V_{max} der Oxidation von Testosteron in der 17β-Position ist in dieser Studie 10mal größer als umgekehrt die Reduktion von **Androstendion** zu Testosteron. Da gleichzeitig die Reduktion von Δ4-3-oxo-Steroiden bei C5 irreversibel ist, ist 5α-Androstan-Dion derjenige Metabolit, der in den Haarfollikelzellen bei dieser Versuchsanordnung am meisten anfällt, wie es sich auch in dieser Arbeit ergibt. Die beiden Autoren verweisen auf die Möglichkeit, daß 5α-Androstan-Dion das aktive intrazelluläre Androgen sein könnte, allerdings

finden sich in ihrer eigenen Arbeit keine signifikanten Unterschiede zwischen androgenabhängigen und -unabhängigen Follikeln und ebenfalls kein geschlechtsspezifischer Unterschied. Der Hinweis auf den erhöhten Steroidumsatz in der anagenen Phase der Follikel deckt sich mit Befunden von TAKAYASU und ADACHI (1972 4). Dies deutet wohl auf einen **allgemein** erhöhten Zellstoffwechsel hin - vgl. auch das Ansteigen der Glucose-6 Ⓟ -Dehydrogenase in dieser Phase (35) -, muß aber nicht notwendigerweise einen Zusammenhang zwischen Aktivität der 5α-Reductase und Haarwachstum bedeuten.

Die o.g. Arbeit von BRUCHOVSKY und WILSON (1968 13) hat das Augenmerk auch auf weitere 5α-reduzierte Metabolite des Testosteron gelenkt. Speziell an den Talgdrüsen wurde das 5α-Androstan-3β,17β-Diol untersucht. Es fand sich eine erhöhte Talgproduktion sowie eine erhöhte Mitoserate in den Talgdrüsen hypophysektomierter und kastrierter Ratten nach Diolgabe (EBLING et al., 1973 29), ferner, daß an gleichfalls hypophysektomierten weiblichen Ratten nach Gabe von 5α-Androstan-3β,17β-Diol die Talgproduktion noch stärker war als nach DHT (NIKKARI et VALAAVARA, 89). 5α-Androstan-3α,17β-Diol fand sich als Metabolit des Testosteron in den Talgdrüsen des Hamsters (GOMEZ et al.,1974 47). Aus Inkubationen von Vorhaut mit Testosteron gewannen GOMEZ et al.(1972 46) an ^{14}C-markierter Radioaktivität zurück: 10,6% **Androstendion**, 4,6% Androsteron und an 5α-reduzierten Metaboliten 4,4% 5α-Androstan-Dion, 11,0% 5α-Androstan-3β-, 15,0% -3α,17β-Diol und 22,6% DHT (das schließt einen geringfügigen Anteil Epiandrosteron ein)- Mit Blick auf den klinischen Aspekt erhöhter Talgproduktion bei Akne verglichen STEWART et al.(1976 127) den Testosteronstoffwechsel menschlicher Kopf- und Rückenhaut. In der Kopfhaut wurden 14,3% (9,8-17,2) des inkubierten ^{3}H-Testosteron zu 5α-reduzierten Metaboliten umgesetzt, in der Rückenhaut - dem eigentlichen akneanfälligen Gewebe - dagegen lediglich 4,9% (2,1-7,0). Die Verfasser führen dies auf die größere

Talgdrüsendichte in der Kopfhaut zurück. Die 5α-Metabolite schlüsseln sich wie folgt auf:

	Rückenhaut	Kopfhaut
5α-Androstan-3β,17β-Diol	27%	44%
5α-Androstan-3α,17β-Diol	11%	8%
DHT	19%	23%
5α-Androstan-Dion	10%	6%
Androsteron	23%	9%
Epiandrosteron	11%	12%

Diese Befunde stehen zum Teil im Gegensatz zu denen von SCHWEIKERT und WILSON (1974 116), die gerade das 5α-Androstan-Dion als Hauptmetaboliten in der Kopfhaut gefunden hatten. Die Werte für die prozentuale Umsetzung des gesamten inkubierten ^{3}H-Testosteron zu den in der vorliegenden Arbeit interessierenden Metaboliten betragen umgerechnet bei Rückenhaut für DHT: 0,931% und für 5α-Androstan-3β,17β-Diol:1,323%, bei Kopfhaut für DHT: 3,289% und für das Diol: 6,292%. Diese Werte liegen um ein Mehrfaches höher als die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit, die allerdings auch an foetaler Haut gewonnen wurden. Über das Androstendion finden sich keine Angaben.

Auch bei der Untersuchung des Testosteronumsatzes der Haut wurde allgemein die Bedeutung der androgenbindenden Makromoleküle für die Entfaltung der Wirksamkeit des Hormons erkannt. FAZEKAS und SANDOR (1972 35) wiesen im Cytosol menschlicher Haarfollikelzellen zwei Makromoleküle nach, welche ^{3}H-DHT banden, eines mit hoher Affinität aber niedriger Bindungskapazität, das andere mit hoher Kapazität aber niedrigerer Affinität für DHT.- TAKAYASU und ADACHI (1972 133) fanden 60 Minuten nach intraperitonealer Injektion von Testosteron bei Hamstern 70% des gebildeten DHT's an Makromoleküle gebunden im Zellkern der Talgdrüsen, während das Testosteron weitgehend ungebunden blieb.- Und der bereits genannte, von SCHWEIKERT und WILSON (1974 115) gezogene Schluß, daß der Testosteronstoffwechsel für sich genommen nicht für die androgene Induzierung bestimmter Haarwuchszonen verantwortlich sein kann, wies ebenfalls auf die Bedeutung cytoplas-

matischer bzw. kerngebundener androgenbindender Makromoleküle für die Hormonwirkung hin. Ob letzteren nun eine aktivierende oder inhibierende oder auch eine Transportfunktion zukommt, konnte speziell für die Haut noch nicht geklärt werden. Vermutet wird eine derartige Transportfunktion für das in den Mikrosomen der Hautzellen gebildete DHT zum Ort seiner Wirkungsentfaltung von VOIGT et al.(1970 145). Auf den Unterschied zu den Ergebnissen und Schlüssen von FANG (1971 34) und KAORU NOZU und TAMAOKI (1973 65) den effektiven Umwandlungsort für Testosteron betreffend sei verwiesen. Vermutlich sind die Vorstellungen, die die zuletzt genannten Autoren modellhaft am Beispiel des Prostatavorderlappen der Ratte entwickelten (vgl.Einleitung I.G.), für jedes andere untersuchte Organ neu zu modifizieren.

Bei ihrer Untersuchung des Testosteron-Stoffwechsels in Mikrosomen menschlicher Hautzellen fiel es VOIGT et al. (1970 145) auf, daß andere, nicht unmittelbar am Testosteronstoffwechsel beteiligte Steroide auf dem Wege der Enzymblockierung die Aktivität der 5α-Reductase beeinflussen können. Von den untersuchten 23 Steroiden hatten den höchsten inhibierenden Effekt auf das Enzym - ausgedrückt in [%] gegenüber einer Kontrollreaktion ohne Inhibitor: Progesteron 93,3%, Deoxycorticosteronacetat 85,8% und **Androstendion** 76,4%. DHT selber verminderte die Reaktion nur um 4,5%, so daß die Vermutung naheliegt, daß die 5α-Reduktion von Testosteron kaum durch eine Produktanhäufung geblockt werden kann. Substituenten am C17-Atom des zugesetzten Steroids in α - statt in β -Position sowie ein zusätzlicher C11-Substituent vermindern den inhibitorischen Effekt.- In einer weiterführenden Arbeit stellten VOIGT et al.(1978 146) einen Katalog für die Dimensionierung und elektrische Konfiguration der Steroide auf, die die 5α-Reductase kompetitiv blocken bzw. nicht blocken können. Dazu gehört 1.) die Δ4-3-oxo-Struktur (sieh.Abb.10). 17α-Substituenten vermindern die blockierende Wirkung, offenbar weil die α-Seite des

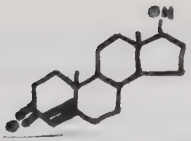


Abbildung 10
3-Keto-Δ4-Struktur am Testosteronmolekül

Steroids dem Enzym zugewandt ist und bei der kompetitiven Anlagerung sozusagen "im Wege" steht. Am C17-Atom stehen die Substituenten am Ende des Steroidmoleküls; am C16-Atom ist dies schon nicht mehr der Fall, weswegen hier angelagerte Ketten nur noch einen abgeschwächten inhibitorischen Effekt auf die 5α-Reductase ausüben (vgl.Abb.11).

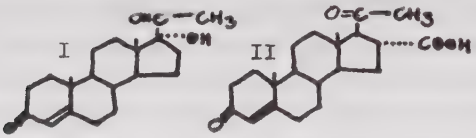


Abbildung 11
I=17α-Hydroxy-progesteron
II=16α-Carboxyl-progesteron

Ferner kommt es darauf an, daß die die C18- und C19-Methylgruppen nach "unten" zeigen, also β-Konfiguration haben, da offenbar die Ringe B und C des Steroids mit ihrer "Oberseite" der Bindungsstelle des Enzyms zugewandt sind: Δ4-Androstan vermindert z.B. die 5α-Reduktion von Testosteron um 76,4%, die isomere Variante mit einer 18α-Methylgruppe aber nur um 54,6% (vgl.Abb.12). Der 3-oxo-Gruppe am Substrat dürfte eine hydrophobe Gruppe am Enzym entsprechen, hydrophile Gruppen

Abbildung 12
I=Androstendion
II=18α-4-Androsten-Dion

wiederum könnten am Enzym die Anlagerung des Coenzyms NADPH in der Nähe der Δ4-Struktur begünstigen. Da Sauerstoffatome an der 17β-Kette Bindung an das Enzym fördern - offenbar hat die 5α-Reductase zu Progesteron eine höhere Affinität als zu Testosteron - dürfte auch hier an der Bindungsstelle eine hydrophile Gruppe stehen.

Neben der Aufklärung der chemischen Struktur der 5α-Reductase liefern diese Untersuchungen auch ganz allgemein Hinweise auf die Art und Weise, in der z.B. das DHT oder das sonst vor Ort wirksame Androgen durch die obengenannten intrazellulären Makromoleküle gebunden oder an den Ort seiner

Wirksamkeit gebracht wird. Untersuchungen dieser Art scheinen auch weiterhin notwendig, um zu einem Verständnis der intrazellulären Wirkungsweise der Androgene zu gelangen, das auf der Kenntnis des Ineinander und Miteinanderwirkens einer Reihe von Molekülen basiert.

Auf eventuelle Geschlechtsunterschiede hin untersuchten KELCH et al.(1971 66) den Testosteronumsatz von foetalem wie von Gewebe Erwachsener. Allgemein ergibt sich der Befund, daß das Testosteron vornehmlich in 17-Keto-Steroide umgesetzt wird (**Androstendion** bzw. 5α -Androstan-Dion), was den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit entspricht. Einerseits findet sich im weiblichen Gewebe regelmäßig eine etwas höhere Aktivität der 17β -HSD; dies gibt den Autoren Anlaß zu der Vermutung, weibliche Geschlechtshormone begünstigten den 17-Keto-Reaktionsweg. Allerdings ergeben sich eindeutigere Unterschiede, differenziert man nach Entnahmestelle der Gewebe und nicht nach Geschlecht: Foetale Dammhaut setzt Testosteron erheblich mehr zu DHT um als beispielsweise Oberschenkelhaut Erwachsener - gleichgültig, ob es sich um männliche oder weibliche Foeten bzw. Erwachsene handelt. Dem entspricht auch das Ergebnis der vergleichenden Untersuchung des Testosteronumsatzes von foetalem Scrotal- und Labiumgewebe in der vorliegenden Arbeit: Gemeinsam war beiden die erhöhte Aktivität der 5α -Reductase gegenüber anderer Haut (s.u.).- Von Wichtigkeit ist der Hinweis von KELCH et al. auf das ubiquitäre Vorkommen der 5α -Reductase: Sie ließ sich bis auf den foetalen Hoden überall nachweisen.

Das Vorherrschen von 5α - gegenüber 5β -Reductase in foetaler Haut belegt die Untersuchung von MICKAN (1972 79) am Beispiel des Progesteronstoffwechsels - leider ohne Angaben über die genauen Entnahmestellen der Haut.

Einen weiteren Versuch, zwischen dem Testosteronumsatz von männlichen und weiblichen Foeten zu unterscheiden, unternahmen SULCOVA et al. (1973 129). Es ergaben sich zwar sig-

nifikante Unterschiede im Umsatz von Testosteron zu DHT zwischen Haut im Genitalbereich und Kontrollhaut aus der Suprascapular-Region (Genitalhaut 0,7-2,9% der inkubierten ^{14}C-Radioaktivität, Suprascapularhaut 0,23%), darüberhinaus aber keine signifikanten Geschlechtsunterschiede und vor allem auch keine Veränderung der Aktivität der 5α-Reductase von der 7. auf die 9.SSW bei männlichen und von der 6. auf die 12.SSW bei weiblichen Foeten. Diese Befunde erscheinen von besonderer Bedeutung angesichts der Tatsache, daß die Fähigkeit des foetalen Hodens Testosteron und **Androstendion** zu produzieren in der 9.SSW beginnt (JIRASEK,1967 63) und die Maskulinisierung des zunächst sexuell indifferenten Foeten bei einer Länge von 35-40 mm (JIRASEK et al.,1968 64) entsprechend der 9.-10.SSW (PATTERN,1953 94) einsetzt. SULCOVA et al. ziehen den Schluß, daß das Vorhandensein der 5α-Reductase in den untersuchten Geweben weder vom Geschlecht noch von dem Stand der Gonadendifferenzierung noch speziell von der foetalen Testosteronsekretion abhängig ist.-

Die Verstoffwechselung von radioaktiv markiertem Dehydroepiandrosteron, Testosteron und **Androstendion** in foetaler (Kopf-, Genital-, Brust- und Achsel-) Haut studierten SHARP et al. (1976 120), belegten die Wirksamkeit der 3β-HSD, Δ^{4-5}-Isomerase, 17β-HSD, 5α-Reductase und der 3α-HSD und fanden quantitative Unterschiede in den Enzymaktivitäten verschiedener Hautentnahmestellen sowie bei unterschiedlichen Reifestadien der Foeten, die mit den in der vorliegenden Arbeit festgestellten Umsatzraten zu vergleichen sind.

Als Testosteronmetabolite wurden gefunden: **Androstendion**, 5α-Androstan-Dion, Androsteron, DHT, 5α-Androstan-3α- und 3β,17β-Diol; 5β-reduzierte Metabolite fanden sich nicht. Die Umwandlung von Testsoteron zu **Androstendion** war erheblich höher als umgekehrt, das 5α-Androstan-Dion fiel entsprechend in hohen Umsatzraten/100 mg Gewebe/2han. Dies deckt sich mit Ergebnissen von SCHWEIKERT und WILSON (1974 116), die bei Inkubation von menschlichen Haarfollikeln gewonnen wurden. Die

Aktivität der 3β-HSD-Δ^{4-5}-Isomerase war sehr niedrig in der Kopfhaut eines Foeten der 12.SSW. In histochemischen Untersuchungen fand sich in der Haut dieses Foeten überhaupt keine Aktivität von 3β-HSD, genausowenig wie in Talgdrüsen foetaler Haut allgemein vor der 24.SSW. In Kopf-, Brust- und Genitalhaut von Foeten der 28. und 41.SSW war die Aktivität dieses Enzyms jedoch sehr hoch.- Leider wird in der Arbeit von SHARP et al. das Vorhandensein dieses Enzyms global auf Grund der Verstoffwechselung von Dehydroepiandrosteron bis hin zu den 5α-Metaboliten des Testosterons überprüft, ohne daß die Stoffwechselschritte im Einzelnen berücksichtigt werden. Jedenfalls stehen diese Ergebnisse im Gegensatz zu denen der vorliegenden Arbeit: Eine Aktivität der 3β-HSD (auf dem Wege der Umsetzung von Testosteron zu 5α-Androstan-3β, 17β-Diol) konnte - wenn auch nur in geringen Raten - in foetaler Kopfhaut vor der 11.SSW nachgewiesen werden.- Die obengenannte, relativ hohe Umwandlung von Testosteron zu 17-oxo-Metaboliten durch die 17β-HSD ist offenbar nicht an Talgdrüsen gebunden. Diese sind erst mit der 16.SSW voll ausgebildet (SHARP et al.,1970 119). Da die 17β-HSD bereits vor dieser Zeit (vgl.auch die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit), außerdem beim Erwachsenen auch außerhalb der Talgdrüsen nachgewiesen wurde, ohne daß sie an eine andere histologische Struktur festgemacht werden konnte (GOMEZ et HSIA, 1968 45), dürfte das Enzym außerhalb der Talgdrüsen angesiedelt sein.- Ähnlich wie SULCOVA et al.(129) finden auch SHARP et al.signifikant höhere Aktivitäten der 5α-Reductase bei foetaler Genitalhaut gegenüber anderer Haut (120).

2.)Ergebnisse

a.)Foetale Kopfhaut

Kopfhaut von neun Foeten der 11. bis 25.SSW (davon 7 männlichen und 2 weiblichen Geschlechts) wurde mit ^{14}C-Testosteron inkubiert. Es fanden sich alle drei der gesuchten Metabolite. Die Tabellen I-III geben Aufschluß über die Einzelergebnisse, Mittelwerte, Varianzen und Standardabweichungen

Tabelle I: Einzelergebnisse foetale Kopfhaut

[% umgesetzte ^{14}C-markierte Radioaktivität]

Foet	Geschlecht	SSL (cm)	SFL (cm)	SSW	DHT	A.-Diol	Δ4
Hü	männl.	9	12	11	0,1884	0,0945	9,8841
Fr	"	6	8	12	0,2973	0,0357	0,6156
Dü	"	6,5	9,5	13	0,2761	0,0980	4,0369
Tr	"	7,5	10	14	1,4715	0,0834	38,5321
Schmi	"	7,5	10	15	0,4219	0,3667	1,9522
Ki	"	11	15,5	15	0,8632	0,5098	5,8942
Tu	"	15	21	18	1,7618	0,7240	29,1648
Mü	weibl.	-	-	22	1,4266	0,2916	9,0518
Se	"	-	-	25	1,3375	0,1688	14,1371

DHT=5α-Dihydrotestosteron; A.-Diol=5α-Androstan-3β,17β-Diol; Δ4=Androstendion

Tabelle II: Statistische Größen (foetale Kopfhaut)

Geschlecht	Metabolit	n	$\bar{x}$ (x_{min}-x_{max})	Varianz	Standardabweichung
männl.	DHT	7	0,7543 (0,1884 -1,7618)	0,4016	0,6337
weibl.	DHT	2	1,3821 (1,9888 -2,5601)	0,0040	0,0630
männl.	A.Diol	7	0,2732 (0,0357 -0,7240)	0,0705	0,2655
weibl.	A.Diol	2	0,2302 (0,1688 -0,2916)	0,0075	0,0868
männl.	Δ4	7	12,8686 (0,6156 -38,5321)	221,5056	14,8831
weibl.	Δ4		11,5945 (9,0518 -14,1371)	12,9301	3,5959

DHT, A.Diol, Δ4: s.o.

Tabelle III: 5α / Δ4-Ratios foetale Kopfhaut

Foet	Geschlecht	SSL (cm)	SFL (cm)	SSW	5α / Δ4
Hü	männl.	9	12	11	0,0286
Fr	"	6	8	12	0,5409
Dü	"	6,5	9,5	13	0,0927
Tr	"	7,5	10	14	0,0404
Schmi	"	7,5	10	15	0,4040
Ki	"	11	15,5	15	0,2329
Tu	"	15	21	18	0,0852
Mü	weibl.	-	-	22	0,1898
Se	"	-	-	25	0,1065

sowie über das Verhältnis von 5α - zu Δ 4-Metaboliten (5α/Δ4-Ratio) in der vorliegenden Versuchsanordnung.- Höchste Umsatzraten erzielte immer die 17β-HSD bei der Umwandlung von Testosteron zu **Androstendion** - ähnliche Befunde erhoben SCHWEIKERT und WILSON (1974 116) an menschlichen Haarfollikeln und SHARP et al.(1976 120) an menschlicher, foetaler Haut. Als zweithäufigster Metabolit fand sich jeweils das DHT (5α-Reductase), der sich anschließende Stoffwechselschritt, die Umwandlung von DHT zu 5α-Androstan-3β,17β-Diol durch die 3β-HSD erbrachte die niedrigsten Umsatzraten.-

Es erscheint wenig sinnvoll, einen Vergleich zwischen männlichen und weiblichen Foeten anzustellen, einmal weil letztere nur mit zwei Einzelwerten vertreten sind und eine statistische Aussage somit ohnehin nicht möglich wäre, zum zweiten besteht bei dem vorliegenden Material nicht die Möglichkeit des direkten Vergleiches zweier verschiedengeschlechtlicher Foeten der gleichen SSW. Immerhin unterscheiden sich die Mittelwerte der Δ 4/5α-Ratios nur ganz geringfügig ($\bar{x}_{männl.}$: 0,1290; $\bar{x}_{weibl.}$: 0,1390). Es sei darauf verwiesen, daß PINSKY et al.(1974 97) bei der Untersuchung des Testosteronstoffwechsels menschlicher Hautfibroblasten auch keinen signifikanten Geschlechtsunterschied in der Δ 4/5α-Ratio fanden. Allerdings handelte es sich dabei um Untersuchungen bei erwachsenen Versuchspersonen.-

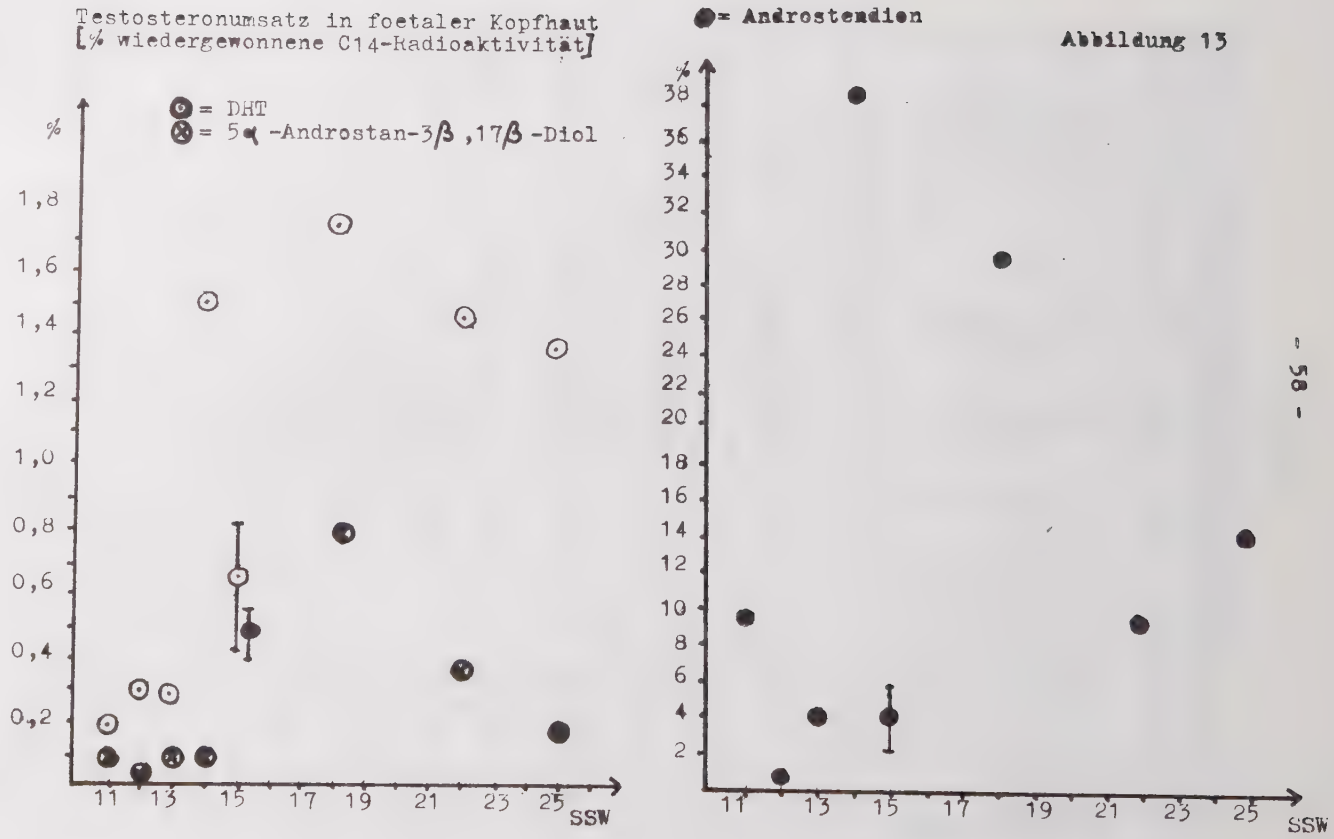


Abbildung 13

Abbildung 13 stellt die gefundenen Umsatzraten über die Zeit dar. Auffallend ist der durch jeweils zwei Hautproben gesicherte Anstieg des Umsatzes von Testosteron zu DHT und 5α-Androstan-3β,17β-Diol von der 13. auf die 14. bzw. von der 14. auf die 15. SSW, der mit einem relativen Abfall des Umsatzes zu **Androstendion** korreliert (vgl. dazu die 5α/Δ4-Ratios in Tabelle II). Da mit der 16.SSW voll ausdifferenzierte Talgdrüsen in der foetalen Haut erstmalig nachgewiesen werden konnten (SHARP et al.,1976 120), könnte hier eine physiologische Bedeutung der 5α-reduzierten Metabolite des Testosterons für die Ausbildung und Stimulierung der Sekretion der foetalen Talgdrüsen vorliegen - speziell des Androstan-Diols, welches ja bereits mehrfach mit deren Funktion in Verbindung gebracht wurde (EBLING et al.,1973 29 ; NIKKARI et VALAVAARA,1973 89 ; GOMEZ et al.,1972 46). Die von VOIGT et al. (1970 145) belegte Fähigkeit des **Androstendion** auf Grund seiner sterischen Konfiguration die 5α-Reductase kompetitiv zu blockieren legt die Vermutung nahe, daß das Ansteigen der Aktivität der 5α-Reductase mit dem Abfall bzw. Stagnieren der Aktivität der 17β-HSD zusammenhängt. Ob darin freilich ein Steuerungsmechanismus für die Wirkungsentfaltung des Testosterons begründet liegt, erscheint allerdings zweifelhaft: Die eingangs geschilderten Untersuchungen über die Rolle der hormonbindenden Rezeptorproteine lassen es eher wahrscheinlich sein, daß Steuerungsvorgänge auf dieser Ebene als auf der der unmittelbaren Reaktionskinetik des Testosteronumsatzes stattfinden.- Von einem Maximum in der 18.SSW fallen die Umsatzraten für DHT und Androstan-Diol wieder ab, allerdings sind die Werte für die 22. und 25.SSW bei weiblichen Foeten erzielt worden.- Bei der Untersuchung erwachsener Kopfhaut fanden STEWART et al.(1977 127) einen erheblich höheren Umsatz von Testosteron zu 5α-Metaboliten (14,5 %), wobei speziell das 5α-Androstan-3β,17β-Diol den Hauptanteil bildete (6,292 %; DHT: 3,289 %). Dieses deckt sich nicht mit den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit, vermutlich weil letztere an foetaler Kopfhaut gewonnen wurde.-

SCHWEIKERT und WILSON (1974 115) untersuchten zwar speziell die Haarfollikel Erwachsener, jedoch fällt der Unterschied in Hinblick auf das 5α-Androstan-Dion auf; bei letzteren ist es der Hauptmetabolit, bei STEWART et al. dagegen findet es sich nur zu 0,888%.

b.)Foetale Rückenhaut

Tabelle IV: Einzelergebnisse foetale Rückenhaut

[% umgesetzte ^{14}C-markierte Radioaktivität]

Foet	Geschlecht	SSL (cm)	SFL (cm)	SSW	DHT	A.-Diol	Δ 4
Gü	männl.	10,5	15	8	1,6651	0,4126	3,7368
Ra	"	11	16	10	0,8548	0,0571	10,0148
Hü	"	9	12	11	0,2010	1,1831	5,8674
Fr	"	6	8	12	0,1928	0,0166	0,9343
Dü	"	6,5	9,5	13	0,2329	0,1128	3,0275
Tr	"	7,5	10	14	0,4774	0,0276	15,0515
Schmi	"	7,5	10	15	0,0334	0,0152	0,5702
Ki	"	11	15,5	15	1,0156	0,1166	4,4988
Tu	"	15	21	18	0,5456	0,2357	12,1286
La	"	20	28,5	24	0,6401	0,0681	20,2353
Se	weibl.	-	-	25	1,1891	0,2858	15,2614

DHT=5α-Dihydrotestosteron; A.-Diol=5α-Androstan-3β,17β-Diol; Δ 4=**Androstendion**

Tabelle V: Statistische Größen (foetale Rückenhaut)

Geschlecht	Metabolit	n	$\bar{x}$ (x_{min}-x_{max})	Varianz	Standardabweichung
männl.	DHT	10	0,5856 (0,0334 -1,6651)	0,2412	0,4912
weibl.	DHT	1	1,1891	-	-
männl.	A.Diol	10	0,2245 (0,0166 -1,1831)	0,1285	0,3585
weibl.	A.diol	1	0,2858	-	-
männl.	Δ 4	10	7,6313 (0,5702 -20,2353)	42,4005	6,5116
weibl.	Δ 4	1	15,2614	-	-

Tabelle VI: 5α/Δ4-Ratios foetale Rückenhaut

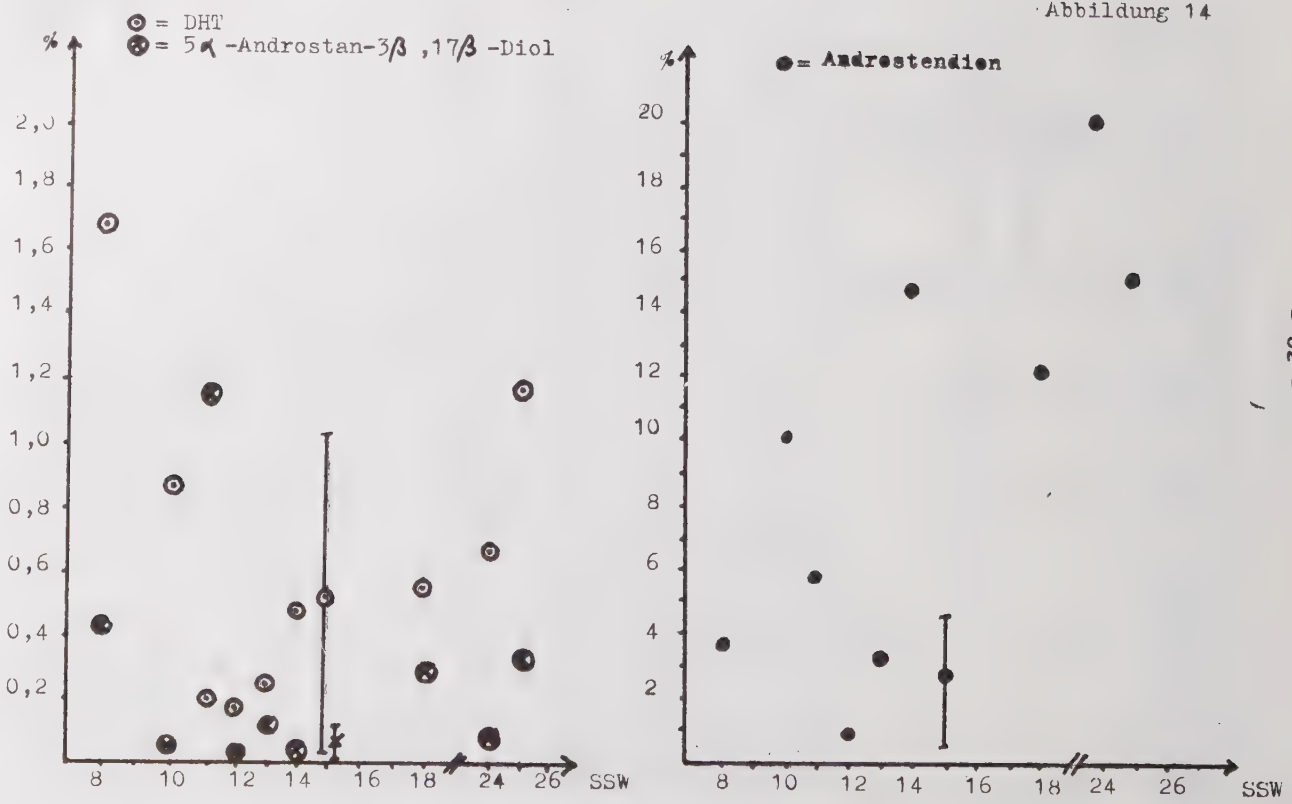
Foet	Geschlecht	SSL (cm)	SFL (cm)	SSW	5α/Δ4
Gü	männl.	10,5	15	8	0,5560
Ra	"	11	16	10	0,0910
Hü	"	9	12	11	0,2359
Fr	"	6	8	12	0,2241
Dü	"	6,5	9,5	13	0,1141
Tr	"	7,5	10	14	0,0336
Schmi	"	7,5	10	15	0,0852
Ki	"	11	15,5	15	0,2516
Tu	"	15	21	18	0,0644
La	"	20	28,5	24	0,0350
Se	weibl.	-	-	25	0,0966

Rückenhaut von 10 männlichen und einen weiblichen Foeten der 8. bis 25. SSW wurden mit markiertem Testosteron inkubiert; die Aktivität von 5α-Reductase, 17β- und 3β-HSD konnte anhand der isolierten Stoffwechselprodukte belegt werden.

Da die Rückenhaut speziell in der Pubertät dazu neigt, Akne zu entwickeln, besteht ein gewisses klinisches Interesse an dem Androgenmetabolismus in diesem Gewebe, insbesonders in den hier angesiedelten Talgdrüsen. In der o.g. Arbeit von STEWART et al.(1977 127) fand sich jedoch gerade hier eine dreimal niedrigere Umwandlung von Testosteron zu 5α-reduzierten Metaboliten als in Kopfhaut. Dieses Ergebnis dürfte auf die niedrigere Talgdrüsendichte in dieser Region zurückzuführen sein. In der vorliegenden Arbeit waren die Umsatzraten zu den genannten Metaboliten in den Inkubationen mit Kopfhaut um den Faktor 1,2 bis 1,6 höher als in denen mit Rückenhaut (bei den männlichen Foeten). Der Vergleich der beiden Gewebe ergab bei den weiblichen Foeten ein anderes Bild: Zwar war auch hier die Umwandlung zu DHT in der Kopfhaut stärker als in der Rückenhaut. Beim Diol und beim Androstendion war das Verhältnis jedoch umgekehrt: Die Aktivität von 3β- und 17β-HSD war in der Rückenhaut 1,2- bzw. 1,3-mal stärker nachweisbar als in der Kopfhaut.- Abbildung 14 zeigt die Umsatzraten für die gesuchten Meta-

Testosteronumsatz in foetaler Rückenhaut
[% wiedergewonnene C_{14}-Radioaktivität]

Abbildung 14



boliten des Testosterons über die Zeit. Es findet sich auch hier wieder - nach hohen Umsatzraten in der 8.-11. SSW - ein kontinuierlicher Anstieg vor allem auch beim DHT, der wie bereits erwähnt mit der Ausbildung der Talgdrüsen zusammenhängen könnte. Ebenfalls findet sich (vgl.Tabelle VI) ein relatives Absinken der Bildung von **Androstendion** in der 14. und 15. SSW mit entsprechender Verschiebung der 5α/Δ4-Ratio zugunsten der 5α-Metabolite. Auch hier liegen die Werte für das 5α-Androstan-3β,17β-Diol unter denen des DHT (bis auf eine Ausnahme in der 11. SSW) und verhalten sich relativ konform mit diesen: Höhere Umsatzraten von Testosteron zu DHT bedingen eine erhöhte Diolbildung, da dieser Stoffwechselschritt der Reduktion in 5α-Position nachgeordnet ist.- Es sei hier daran erinnert, daß die Ausbildung der Talgdrüsen eine Reihe von Einzelschritten beinhaltet: Eindringen von Epithelknospen in das darunterliegende Mesenchym, Differenzierung der randständigen Zellen zu Wandzellen, Zerfall der zentralen Zellen und Bildung eines Lumens, Bildung von Sebum durch die am Drüsenende gelegenen Zellen, diese Vorgänge räumlich und zeitlich gekoppelt an die Bildung von Haarknospen, -schaft und -scheide (LANGMAN,1972 70). Der Nachweis der zunehmenden Bildung von DHT und Androstan-Diol aus Testosteron, gekoppelt mit einem relativen Abfall der Aktivität der 17β-HSD, kann nur einen Einzelaspekt bei dem komplizierten Prozeß der Umsetzung einer biochemischen Reaktion zur Differenzierung von Körperzellen auf eine bestimmte physiologische Leistung hin beleuchten.

Bei dem Vergleich des Testosteronumsatzes von foetaler Kopf- und Rückenhaut fand sich zwar bei den männlichen Foeten - nur hier konnte auf Grund einer ausreichenden Anzahl von Einzelversuchen eine statistische, vergleichende Untersuchung erfolgen - ein allgemein höherer Umsatz von Testosteron in der Kopfhaut (vgl. die Mittelwerte $\bar{x}$ in den Tabellen II und V), eine statististische Signifikanz kam diesem Unterschied jedoch nicht zu.

c.)Hautproben verschiedener Regionen eines weiblichen Foeten der 25. SSW

An einem weiblichen Foeten der 25.SSW wurden sieben verschiedene Hautproben entnommen (Axilla, Oberschenkel, Oberarm, Labium und Bauch neben den schon erwähnten Rücken und Kopf)

Tabelle VII: Testosteronumsatz verschiedener Hautregionen eines Foeten der 25. SSW (Se)

& umgesetzte ^{14}C-markierte Radioaktivität

Hautregion	DHT	A.-Diol	Δ 4	5α / Δ4
Oberarm	0,7583	0,0941	12,0828	0,0728
Oberschenkel	0,9950	0,1709	25,3760	0,0459
Axilla	1,3504	0,2185	17,0362	0,0921
Rücken	1,1891	0,2858	15,2614	0,0966
Kopf	1,3375	0,1688	14,1371	0,1065
Bauch	1,7653	0,2235	24,8043	0,0818
Labium maj.	12,8042	0,7219	9,0107	1,5011

DHT=5α-Dihydrotestosteron; A.-Diol=5α-Androstan-3β,17β-Diol; Δ 4=Androstendion

Abbildung 14

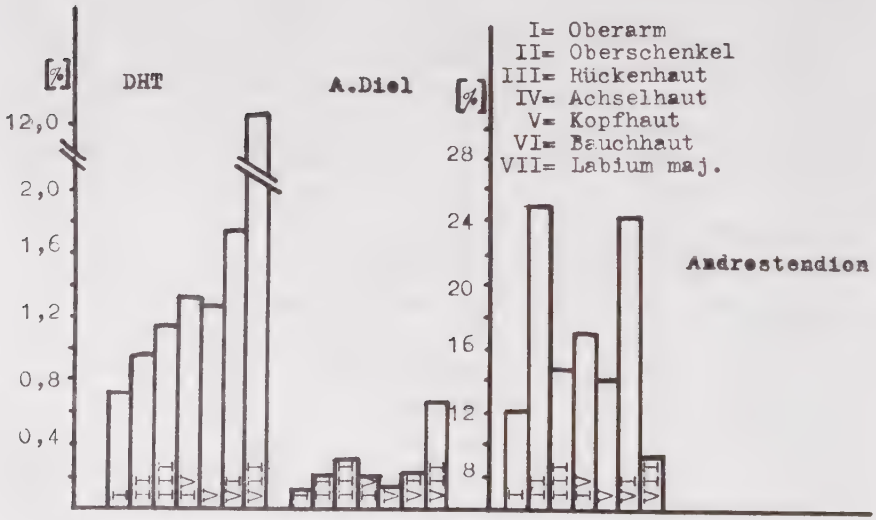


Abbildung 15 gibt eine Anschauung der Umsatzraten von Testosteron zu DHT, Androstan-Diol und **Androstendion**. Es wird deutlich, daß vor allem die 5α-Metabolite, in gewissem Maße auch das **Androstendion**, je Entnahmestelle in einer gewissen Verhältnis zueinander gebildet werden. Dieses trifft allerdings nicht für die Inkubationen mit Haut von Labium maj. zu, in denen die Umsatzraten für **Androstendion** niedriger lagen als für die 5α-Metabolite. Die in Tabelle VII angegebenen 5α/Δ4-Ratios verdeutlichen, daß neben Kopf- und Rückenhaut auch Axillarhaut relativ weniger Testosteron zu **Androstendion** verstoffwechselt als vergleichsweise Haut von Bauch, Oberschenkel und Oberarm. Dieser Befund ist im Einklang mit der Beobachtung, daß gerade auch die Talgdrüsen der Axilla androgenabhängig sind, immer vorausgesetzt, daß hier die 5α-Metabolite des Testosterons und insbesonders das 5α-Androstan-3β,17β-Diol die wirksamen Androgene sind.-

Völlig andere Verhältnisse finden wir bei der Haut aus dem Bereich der foetalen Labia maj. Erstmals finden sich höhere Aktivitäten der 5α-Reductase und der 3β-HSD als der 17β-HSD. Dieser und die anderen an Labium-Haut gefundenen Umsatzraten (s.u.) sind noch in Beziehung zu setzen zu den Ergebnissen bei foetalem Scrotalgewebe. Es sei aber schon hier darauf hingewiesen, daß SIITERI und WILSON (1974 122) in den Geweben des Genitalwulstes, aus dem sich ja beim weiblichen Foeten die großen Labien und beim männlichen das Scrotum herausdifferenzieren, unabhängig vom Geschlecht, hohe Umsatzraten zu DHT fanden.

d.)Foetale Labia majora

Tabelle VIII: Einzelergebnisse foetale Labia maj.
[% umgesetzte ^{14}C-Radioaktivität]

Foet	Geschlecht	SSL (cm)	SFL (cm)	SSW	DHT	A.-Diol	Δ 4
Mü	weibl.	-	-	22	5,5539	0,2480	3,8370
Sa	"	19,5	28,5	23	3,5535	0,4110	1,1916
Se	"	-	-	25	12,8042	0,7219	9,0107

DHT=5α-Dihydrotestosteron; A.-Diol=5α-Androstan-3β,17β-Diol; Δ 4= **Androstendion**

Tabelle IX: 5α/Δ4-Ratios foetale Labia maj.

Foet	Geschlecht	SSL (cm)	SFL (cm)	SSW	5α/Δ4
Mü	weibl.	-	-	22	1,5121
Sa	"	19,5	28,5	23	3,3270
Se	"	-	-	25	1,5011

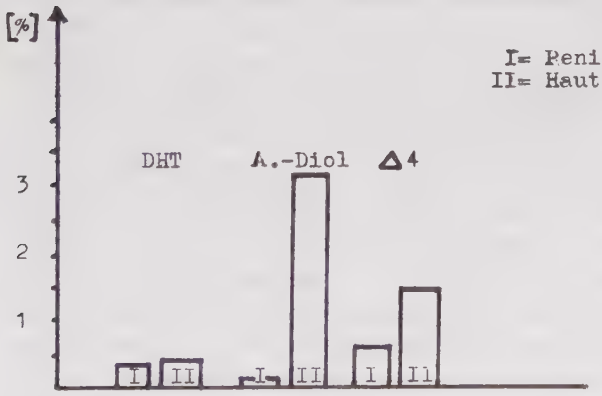
Bei drei weiblichen Foeten wurde Haut aus dem Bereich der **Labia** majora entnommen. Wie in der 25.SSW (s.o.) fand sich auch in der 23. und 25.SSW nach Inkubation mit markiertem Testosteron ein Mehr an 5α-Metaboliten als an **Androstendion**, wie auch deutlich aus den 5α-/Δ4-Ratios hervorgeht. Diese Ergebnisse haben eine Parallele in den Befunden von MULAY et al. (1972 84). Nach Inkubation von Fibroblasten genitaler Haut zeigte es sich, daß in diesen Geweben Testosteron nicht nur in größeren Mengen zu DHT umgesetzt wird, sondern auch erheblich schneller als im Vergleich mit Kontrollversuchen mit Fibroblasten der Bauch- und Oberarmhaut.- Wie aus der o.g. Arbeit von SIITERI und WILSON (1974 122) hervorgeht, vermag das foetale Gewebe im Bereich des Genitalwulstes - genauso wie das des Urogenitalsinus (aus denen sich bei männlichen Foeten die Urethra und die Prostata, beim weiblichen Foeten die Urethra und aus den Bulbi sinovaginales - Gewebsknospen vom Sinus urogenitalis - die Vaginalplatte entwikkeln) und des Genitalhöckers (hier entstehen Klitoris beim weiblichen, Phallus beim männlichen Foeten) (LANGMAN,1972 70) - bereits vor Beginn der testikulären Testosteronsekretion 5α-Metabolite zu bilden. Das in der vorliegenden Arbeit bestätigte Enzymmuster 5α-Reductase/3β-HSD im Bereich der Labium-Haut bleibt mithin auch über das indifferente Stadium der äußeren und inneren Genitale erhalten. - Darüberhinaus bestätigt es sich, daß das Ausmaß der Aktivität der 5α-Reductase weniger vom Geschlecht des Foeten als von der Herkunft des Gewebes , das zur Inkubation gelangt, abhängt. Wie im Folgenden zu zeigen sein wird, sind im von der Entwicklung her verwandten Scrotalgewebe die Umsatzraten zu DHT erheblich höher als in allen anderen verglichenen Geweben

(s.u.). Dem entsprechen auch die Befunde von SULCOVA et al. (1973 129), die keinen Geschlechtsunterschied im Testosteronumsatz foetaler genitaler Haut feststellen konnten.

e.)Genitalhaut eines Foeten der 36.SSW

Abbildung 16 verdeutlicht die Befunde bei einem totgeborenen männlichen Foeten der 36. SSW., von dem Penis- und Haut aus dem unteren Schamdreieck untersucht wurden. Auffallend sind die niedrigen Umsatzraten zu DHT, jenem gerade in diesem Bereich als wirksam angenommenen Androgen. Da aber auch vergleichsweise wenig **Androstendion** gefunden wurde, ist anzunehmen, daß die notwendigen Enzymmuster bzw. die Bedingungen ihrer Funktionsfähigkeit im Zuge der Degeneration der Hautzellen mit zu Grunde **gegangen waren**. Nach Angaben der Patientin hatten die Kindsbewegungen vier Tage vor der Ausstoßung aufgehört; es lag eine Maceration 1.Grades vor.

Abbildung 16



DHT=5α-Dihydrotestosteron;
A.-Diol=5α-Androstan-3β,17β-Diol
Δ4=**Androstendion**

B.Scrotalgewebe

1.) Literaturnachweis

Von sieben männlichen Foeten der 8. bis 24. SSW wurden jeweils 100mg Gewebe aus dem Bereich des Scrotalsacks entnommen. Es handelt sich dabei um Gewebe aus dem Bereich des ursprünglichen Sinus urogenitalis, der sich von einem indifferenten Stadium in der 4.-6. SSW aus der sog. Kloake entwickelt, der gemeinsamen Ausführungsöffnung von Darm, Geschlechts- und Harnwegen. Nach ventral entwickelt sich der Genitalhöcker zum Phallus, nach seitlich der Genitalwulst zum Scrotum - entsprechend den Labia majora des weiblichen Foeten (LANGMANN,1972 70). Untersuchungen über den Androgenstoffwechsel in diesen Geweben konnten zeigen, daß im Zuge der Ausdifferenzierung dieser Gewebe nicht das Testosteron, sondern dessen vor Ort gebildeter Metabolit DHT das aktive Androgen ist (SIITERI et WILSON,1974 122 ; WILSON,1973 150), wobei die Vermittlung der biologischen Wirkung des Hormons vermutlich über eine Reihe von intrazellulären Makromolekülen erfolgt (s.o.).-

Das von uns untersuchte skrotale Gewebe beinhaltet noch nicht die männlichen Keimdrüsen: Der foetale Hoden befindet sich in der 8.SSW in Höhe der foetalen Urniere und ist mit den Scrotalwülsten lediglich durch das Gubernaculum testis (mesenchymalen Verdickungen und Resten der Urniere) verbunden, dessen relative Verkürzung - im Verhältnis zum Wachstum des Foeten - den Hoden in den Bereich des Leistenkanals "zieht". Erst im 7. Schwangerschaftsmonat beginnt der Hoden seine Wanderung durch den Leistenkanal in das Scrotum. JEAN et al. zeigten, daß diese Wanderung ebenfalls hormonal gesteuert wird. Injektionen von Oestradiol in schwangere Mäuse stoppten den Descensus testis pararenal, paravesiculär oder inguinal (1975 62).

Zahlreiche Untersuchungen über den Testosteronstoffwechsel im Bereich der äußeren männlichen Genitale haben die dort vorherrschende hohe Aktivität der 5α-Reductase belegt und

lassen es als sicher erscheinen, daß das DHT das vor Ort wirksame Androgen ist: DHT und nach längerer Inkubation 5α-Androstan-Diol sind die Hauptmetabolite markierten Testosterons nach Inkubation mit menschlicher Vorhaut. Dammhaut männlicher und weiblicher Foeten der 14.-16- SSW hatten 90mal bzw. 70mal höhere Umsatzraten zu DHT als Kontrollhaut aus dem Bereich des Oberschenkels (KELCH et al.,1971 66). GOMEZ et al.(1972 46)fanden bei der Inkubation von Vorhaut Neugeborener von der inkubierten C_{14}-Aktivität nicht nur verhältnismäßig mehr zu DHT als zu **Androstendion** umgewandelt (22,6% : 10,6%), sondern auch der Anteil der 5α-Androstan-Diole war höher (3α-Diol: 15,0%; 3β-Diol: 11,0%). SULCOVA et al. (1973 129) schließlich fanden bei der Inkubation von Haut aus dem Bereich der äußeren Genitale von Foeten der 6.-12. SSW keine Veränderung der Aktivität der 5α-Reductase von der 6. auf die 12. SSW und darüberhinaus auch keinen signifikanten Geschlechtsunterschied. Dies belegt, daß die Aktivität dieses Enzyms schon vor Beginn der testikulären Hormonsekretion in der 8.-9. SSW jedenfalls in diesem androgenen Zielgewebe vorhanden ist; zweitens deckt sich dies mit den bereits genannten Befunden von SIITERI und WILSON (1974 122), die bei ihren Untersuchungen von Geweben aus dem Bereich des Sinus urogenitalis, des Genitalhökkers und des Genitalwulstes in dieser Hinsicht ebenfalls keinen Geschlechtsunterschied fanden.-

Ein spezieller Befund sei noch erwähnt: M.J.WILSON et al. (1973 152) konnten zeigen, daß an reifen Rattenhoden das Testosteron - oder eines seiner Metabolite - Wassergehalt und Extrazellulärvolumen des Scrotalgewebes erhöht, die Verteilung freier Aminosäuren, insbesonders von radioaktiv markiertem Tyrosin, einem Vorläufer des pigmentbildenden Melanins, aufrechterhält und möglicherweise durch Induktion der Synthese von entsprechenden Enzymen (Tyrosinasen) die Bildung des Melanins indirekt beeinflußt. Daß es sich dabei um eine spezielle Wirkung am Scrotum handelt, zeigten Kontrollver-

suche an Vorhaut und Augenlid: Hier ließen sich die genannten Ergebnisse nicht reproduzieren.-

2.)Ergebnisse

Tabelle X: Einzelergebnisse foetales Scrotalgewebe

[%]umgesetzte ^{14}C-markierte Radioaktivität

Foet	SSL (cm)	SFL (cm)	SSW	DHT	A.-Diol	Δ4
Gü	10,5	15	8	11,4107	0,5452	2,7941
Ra	11	16	10	51,8656	- -	2,0382
Hü	9	12	11	7,9036	0,1899	2,2487
Go	12	18	18	5,5376	0,3941	0,9730
Tu	15	21	18	26,4985	0,4851	3,8048
La	20	28,5	24	2,2661	0,0451	2,4439
Gne	-	34	24	16,7266	1,0631	2,1268

Tabelle XI: Statistische Größen (foetales Scrotalgewebe)

Metabolit	n	$\bar{x}$ (x_{min}-x_{max})	Varianz	Standard-abweichung
DHT	7	17,4584 (2,2661-51,8656)	294,4824	17,1605
A.-Diol	6	0,4553 (0,0451-1,0631)	0,1227	0,3503
Δ4	7	2,3471 (0,9730-3,8048)	0,7293	0,8540

DHT=5α-Dihydrotestosteron; A.-Diol=5α-Androstan-3β,17β-Diol; Δ 4=Androstendion

Tabelle XII: 5α/Δ4-Ratios foetales Scrotalgewebe

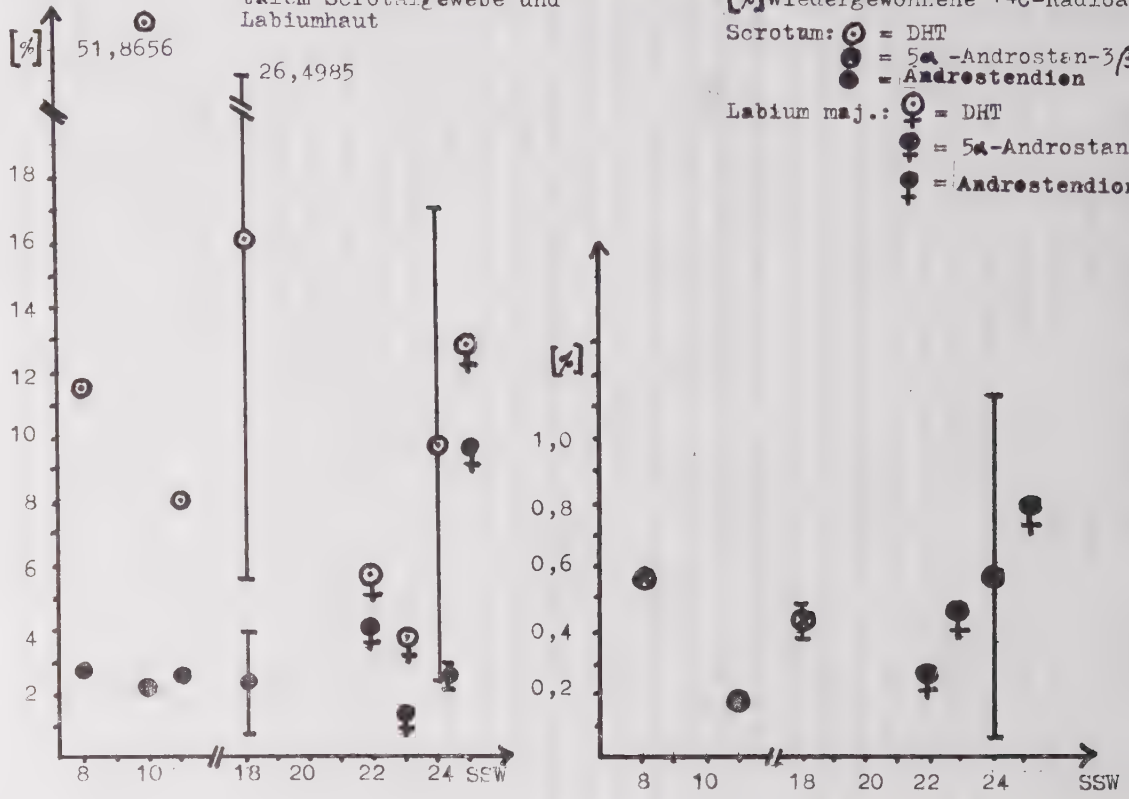
Foet	SSL (cm)	SFL (cm)	SSW	5α/Δ4
Gü	10,5	15	8	4,2789
Ra	11	16	10	25,4467
Hü	9	12	11	3,5991
Go	12	18	18	6,0963
Tu	15	21	18	7,0991
La	20	28,5	24	0,9495
Gne	-	34	24	8,3645

Die in Tabelle X aufgeführten Ergebnisse befinden sich im Einklang mit den vorher genannten Arbeiten: DHT findet sich als Hauptmetabolit in foetalem Scrotalgewebe nach Inkubation mit ^{14}C-markiertem Testosteron; ihm gegenüber bleiben sogar die Umsatzraten zu **Androstendion** zurück, welches in den Untersuchungen der vorliegenden Arbeit in aller Regel am meisten anfiel. Dieser Umstand drückt sich auch in den 5α/Δ4-Ratios aus (sieh.Tabelle XII). Das 5α-Androstan-3β,17β-Diol machte dabei immer nur einen Bruchteil der 5α-Metabolite aus. Dies deckt sich mit den Ergebnissen von SIITERI und WILSON (122 , 150 , 151): DHT ist dasjenige Androgen, welches die spezifische Umformung der Gewebe im Bereich des Sinus urogenitalis zum männlichen Phänotyp bewirkt. Abbildung 17 zeigt den Testosteronumsatz im foetalen Scrotalgewebe aufgetragen gegen die Zeit. Es findet sich, will man nicht den sehr hohen Wert für DHT in der 10.SSW als "Ausreißer" eliminieren, ein leichter Abfall zur 18.-24.SSW hin. Dieser Abfall ist aber nicht in Verbindung zu bringen mit dem physiologischen Absinken der Testosteronspiegel im foetalen Plasma zur gleichen Zeit: Unter den in vitro - Bedingungen der hier durchgeführten Untersuchungen waren die inkubierten Testosteronquantitäten immer konstant; außerdem legen die Ergebnisse von SULCOVA et al. (1973 129) nahe, daß die Aktivität der 5α-Reductase unabhängig ist vom zirkulierenden Testosteron, da sie sich bereits vor Einsetzen der testikulären Hormonsekretion nachweisen läßt.- Wichtiger ist in diesem Zusammenhang ein anderer Umstand, auf den bereits hingewiesen wurde: Der vermehrte Anfall von DHT in diesem Gewebe a l l e i n e kann nicht ausschlaggebend sein für dessen männliche Differenzierung. Die bei Inkubation von Labium-Haut - also entwicklungsgeschichtlich identischem Gewebe - nachgewiesene hohe Aktivität der 5α-Reductase, die zum Vergleich in Abbildung 17 mitberücksichtigt wurde, ergab z.T. einen höheren Umsatz zu DHT als beim Scrotalgewebe. Leider genügt hier die Zahl der untersuchten Gewebe nicht aus, um diesen Vergleich auch

statistisch zu untermauern.- Es sei jedoch auf die 5α /Δ4-Ratios hingewiesen, die einen relativ höheren Anteil an **Androstendion** bei den gefundenen Metaboliten bei Labium-Haut ausweisen. Dieser Befund läßt denken an die hohen Δ4-Androstan-Spiegel im Plasma erwachsener Frauen (160 ng/100 ml gegenüber 77 ng/100 ml beim Mann) und an den bei Kindern unter 10 Jahren gegenüber Testosteron ebenfalls relativ höheren Anteil von **Androstendion** im Plasma (30 ng:19 ng/100 ml bei Mädchen und 86 ng:42 ng/100 ml bei Jungen) (SIEGENTHALER,1973 121). Vermutlich aber liegt - wie bereits erwähnt - der Grund für die unterschiedliche Entwicklung der beiden Geschlechter im Bereich des Sinus urogenitalis auf einer anderen Ebene als auf der des unmittelbaren Testosteronstoffwechsels. Hier dürften Rezeptorproteine in der Zelle, wie sie z.B. für die Zellkerne des Vorderlappens der Rattenprostata 1968 von BRUCHOVSKY und WILSON (13) entdeckt wurden, steuernd eingreifen. Dabei steht die Umwandlung von Testosteron zu DHT am Anfang einer Kaskade von Einzelschritten, an deren Ende die Synthese von Proteinen als letztendlicher Wirkung des Androgens steht.

Die statistische Auswertung ergab in Hinblick auf die Umwandlung von Testosteron zu DHT einen signifikanten Unterschied zu allen anderen untersuchten Geweben, wodurch der besondere Charakter des Scrotums als androgenen Zielgewebe nachhaltig belegt wird. Das **Androstendion** fiel in signifikant niedrigeren Raten an als in Nebenniere, Rückenhaut, Niere Leber und Darm. Nicht signifikant war hier der Unterschied zu Lunge, Herz und Kopfhaut, die aber allesamt auch niedrigere Umsatzraten zu **Androstendion** aufwiesen (vgl. IV.Statistischer Vergleich) . Ein signifikanter Unterschied im Umsatz zu 5α-Androstan-3β ,17β -Diol ergab sich lediglich gegenüber Inkubationen mit Lungengewebe; hier waren die Umsatzraten niedriger als im Scrotalgewebe, welches nach Leber von allen untersuchten Geweben immerhin am meisten 3β - Diol aus Testosteron bildete. Wiewohl auch hier nachweisbar, kommt dem Diol hier nicht die Bedeutung wie dem DHT zu.

Abbildung 17: Testosteronumsatz in foetalem Scrotalgewebe und Labiumhaut



C.Herz

1.) Literaturnachweis

Untersuchungen über den Steroidstoffwechsel im Herzmuskel, insbesonders im foetalen, sind bislang nur wenige vorgenommen worden. Verständlicherweise haben mehr die bekannten Zielgewebe von Androgenen das Interesse auf sich gezogen. Umsomehr ist die Frage nach der ubiquitären Vorkommen der von uns untersuchten Aktivität der 5α-Reductase, der 3β-HSD und der 17β-HSD auch in diesem Gewebe von Interesse.

Es sollen hier auch diejenigen Arbeiten erwähnt werden, in denen neben dem Androgenstoffwechsel des Herzmuskels auch der der quergestreiften Muskulatur untersucht wird, obgleich es sich hier um Gewebe unterschiedlicher Herkunft handelt. Letztgenannte entwickelt sich in Form von Myotomen von der 3. SSW an während des Somitenstadiums des Embryos aus mesodermalen Gewebe, während die Anlage des Herzmuskels, streng im kranialen Bereich des Embryos lokalisiert, sich in der Zeit des 20.-23. Tages entwickelt; in dieser Zeit - kurz vor der Somitenbildung - entwickeln sich auch aus angiogenetischen Material die intraembryonalen Blutgefäße. Da es sich aber bei beiden um Gewebe mesodermaler Herkunft handelt (LANGMANN,1972 70), sei eine vergleichende Betrachtung erlaubt.

KELCH et al.(1971 66) inkubierten foetales wie auch Muskelgewebe von Erwachsenen mit radioaktiv markiertem Testosteron, wobei für die foetale Muskulatur die Aktivität der 5α-Reductase und der 17β-HSD nachgewiesen werden konnte (allerdings in Bruchteilen im Verhältnis zu gleichfalls untersuchten androgenen Zielgeweben), während sich am Muskel von Erwachsenen lediglich die 17β-HSD nachweisen ließ. Das **Androstendion** fiel beim männlichen Foeten 43mal soviel an wie beim weiblichen und 11-17mal soviel wie das 5α-DHT.- BURIC et al.(1972 16) spritzten Ratten intravenös markiertes Testosteron sowie DHT 3, 7 und 12 Tage, nachdem diese

kastriert worden waren, und untersuchten die Aufnahme der Steroide in verschiedenen Organen und Geweben. In absoluten dpm nahmen Skelettmuskelzellen weniger Steroide auf als z.B. Prostata und Samenbläschen und in Gegensatz zu diesen beiden relativ mehr Testosteron als DHT. Die Autoren vermuten einen Mangel an spezifischen DHT-bindenden Makromolekülen, wie sie für die Prostata nachgewiesen sind und die gerade deren Qualität als androgenes Zielgewebe ausmachen.- STERN et al. (1975 126) injizierten C_{14}-Testosteron in die Nabelvenen von Foeten zum Zeitpunkt der Laparatomie und untersuchten anschließend die Aufnahme der Radioaktivität in diversen Geweben. In der absoluten Menge aufgenommener Radioaktivität rangiert das Herzmuskelgewebe bei 10 untersuchten Geweben an 6.Stelle (hinter Leber, Gehirn, Lunge, Darm und Nebenniere und vor Niere, Gonaden, Thymus und Schilddrüse). Auch dies kann nur ein Hinweis sein: Zwar kann unterschieden werden zwischen dem Enzymmolekül, das beispielsweise die Reduktion von Testosteron vermittelt, und einem Testosteron-bindenden Molekül in der Zelle (BURIC et al.,1972 16), andererseits ließe sich aber auch von der Fähigkeit zur Bindung eines Steroids auf eine entsprechende Fähigkeit zur Verstoffwechselung desselben schließen, so daß im Falle des Herzmuskels von hier aus nur auf eine begrenzte Kapazität zur Verstoffwechselung von Testosteron zu rechnen ist.- Die Umwandlung von **Androstendion** zu Östron untersuchte SCHINDLER (1975 109) auch am foetalen Herzmuskel. Dabei vermochte das inkubierte Gewebe nur in ganz geringem Maße die Aromatisierung des **Androstendion** zu bewirken (0,18 % Umwandlung gegenüber z.T. erheblich höheren Raten bei Leber, Nebeniere, Niere, Lunge und Darm).

2.) Ergebnisse

Herzmuskelgewebe von 10 Foeten der 8.-24.SSW wurde inkubiert. Die Tabellen XIII-XV geben einen Überblick über die erzielten Umsatzraten zu DHT, 5α-Androstan-3β,17β-Diol und **Androstendion**, verschiedene statistische Größen sowie die

Tabelle XIII: Einzelergebnisse foetales Herzgewebe

[% umgesetzte 14C-markierte Radioaktivität]

Foet	Geschlecht	SSL (cm)	SFL (cm)	SSW	DHT	A.Diol	Δ4
Gü	männl.	10,5	15	8	0,4669	0,0588	30,3166
Ra	"	11	16	10	0,6046	0,0144	6,5050
Hü	"	9	12	11	0,4116	0,0573	1,6223
Tr	"	7,5	10	14	0,3639	0,0229	2,9503
Ki	"	11	15,5	15	0,6596	0,1445	2,5811
Ep	"	11	17	15	0,6219	0,0590	2,7776
Go	"	12	18	18	0,1809	0,1848	0,7892
Tu	"	15	21	18	1.0690	2,1140	1,6406
Sa	weibl.	19,5	28,5	23	0,6463	0,0758	0,7013
La	männl.	20	28,5	24	0,2708	0,0656	0,7985

DHT=5α-Dihydrotestosteron; A.Diol=5α-Androstan-3β,17β-Diol; Δ 4=Androstendion

Tabelle XIV: Statistische Größen (foetales Herzgewebe)

Geschlecht	Metabolit	n	$\bar{x}$ (x_{min}-x_{max})	Varianz	Standardabweichung
männl.	DHT	9	0,5166 (0,1809 -1,0690)	0,0693	0,2632
weibl.	DHT	1	0,6463	-	-
männl.	A.Diol	9	0,3020 (0,0144 -2,1140)	0,4647	0,6817
weibl.	A.Diol	1	0,0758	-	-
männl.	Δ4	9	5,5535 (0,7892 -30,3166)	89,1885	9,4440

5α/Δ4-Ratios. Abbildung 18 veranschaulicht die Verstoffwechselung von Testosteron in diesem Gewebe über die Zeit.

Es wurden die Aktivitäten der 5α-Reductase, der 3β-HSD sowie der 17β-HSD für dieses Gewebe nachgewiesen sowohl bei männlichen wie auch bei dem einen untersuchten weiblichen Foeten. Eine zeitliche Abhängigkeit des Testosteronstoffwechsels läßt sich aus Abbildung 18 nicht ablesen. Ledig-

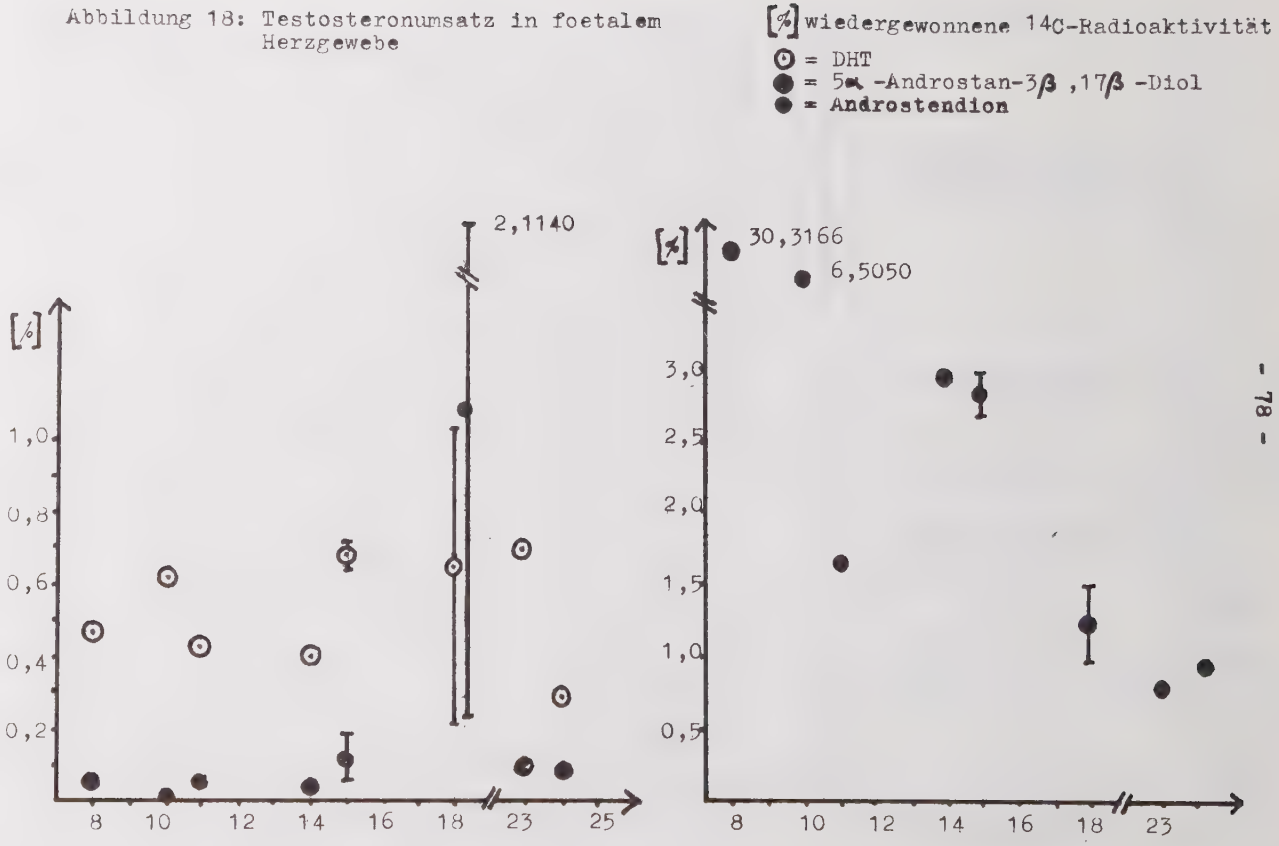
Tabelle XV: 5α/Δ4-Ratios foetales Herzgewebe

Foet	Geschlecht	SSL (cm)	SFL (cm)	SSW	5α/Δ4
Gü	männl.	10,5	15	8	0,0172
Ra	"	11	16	10	0,0951
Hü	"	9	12	11	0,2890
Tr	"	7,5	10	14	0,1311
Ki	"	11	15,5	15	0,3115
Ep	"	11	17	15	0,2451
Go	"	12	18	18	0,4633
Tu	"	15	21	18	1,9401
Sa	weibl.	19,5	28,5	23	1,0296
La	männl.	20	28,5	24	0,4212

lich das Ansteigen der 5α/Δ4-Ratios , verursacht durch den Abfall der Umwandlung von Testosteron zu Androstendion von der 8. auf die 18.SSW, erscheint auffallend. (vgl.Tab.XV)

Die Aktivität der 5α-Reductase ist gegenüber anderen untersuchten Geweben relativ gering. Zwar finden sich außer gegenüber dem Scrotalgewebe keine signifikanten Unterschiede (vgl.IV.Statistischer Vergleich),es sei aber trotzdem darauf hingewiesen, daß von neun inkubierten Geweben das foetale Herz durchschnittlich an siebter Stelle steht, was die Verstoffwechselung von Testosteron zu DHT angeht, in der Kapazität zur Umwandlung von DHT zu Androstan-Diol dagegen an vierter. Ebenfalls relativ schwach ist die Umsatzrate zu Androstendion , sie wird lediglich unterboten von jener in Lunge und Scrotum. Es sei in diesem Zusammenhang an den Befund von KELCH et al. (1971 66) erinnert. Es könnte vermutet werden, daß die Aktivität der 5α-Reductase, nachdem sie - dies sei im Vorgriff auf die anderen untersuchten foetalen Gewebe gesagt - sich ubiquitär nachweisen ließ, nach der Geburt im Muskelgewebe verloren geht, möglicherweise weil dann keine physiologische Notwendigkeit mehr für dieses spezifische Enzym besteht. Diese Vermutung bedürfte aber noch weiterer Abklärung.

Abbildung 18: Testosteronumsatz in foetalem Herzgewebe



D.Lunge

1.) Literaturnachweis

Die Lunge ist - obgleich nicht zu den androgenen Zielorganen im engeren Sinne rechnend - ein endokrin aktives Organ und wird deshalb mit Recht zu den sog. paraendokrinen Organen gerechnet. STERN et al.(1975 126) zeigten, daß nach Injektion von ^{14}C-Testosteron in die Vena umbilicalis von Foeten der 16.-18.SSW zwar die größeren Anteile der zugeführten Radioaktivität in Leber und Gehirn gebunden und verstoffwechselt wurden, die dritthöchste Bindungskapazität hatte dann aber schon das Lungengewebe vor Darm, Nebenniere, Herz und Niere. Leider sind in dieser Arbeit nicht die Umsatzraten von Testosteron zu seinen Metaboliten angegeben, es wird aber deutlich, daß die foetale Lunge in der Lage ist, zirkulierendes Testosteron effektiver als die genannten anderen Organe zu binden und zu verstoffwechseln.-

In den letzten Jahren wurden in verschiedenen Arbeiten foetales wie auch das Lungengewebe Erwachsener auf die Aktivität jener Enzyme hin untersuct, welche die Androgenbiosynthese vom Pregnenolon bis hin zu den 5α-Metaboliten des Testosteron vermitteln. BIRD et al.(1966 8) wiesen in den Lungen von Foeten der 17.-21.SSW nach Perfusion mit markiertem Progesteron die Aktivität der 5α-Reductase, der 3β-HSD sowie der 6β-Hydroxylase, der 20β-HSD und in geringem Maße auch der 17α-Hydroxylase nach. - Zum gleichen Ergebnis kommt SOLOMON (1966 124) an nicht lebensfähigen, in der Litte der Schwangerschaft geborenen Foeten.- Bei der in vivo Perfusion von Lungengewebe eines Erwachsenen fanden sich als Metabolite des radioaktiv markierten Dehydroepiandrosteron vor allem 5-Androsten-3β,17β-Diol, daneben aber auch Testosteron, Androstendion, Androsteron sowie auch Oestrogene (MENZEL et al., 1970 78).- PFLÜGER (1973 96) konnte bei Inkubation von Lungengewebe von Foeten der 13.-27.SSW nur eine geringe Umwandlung von Pregnenolon zu Progesteron nachweisen (= der Aktivität der 3β-HSD-Δ^{4-5}Isomerase); im Gegensatz zu den

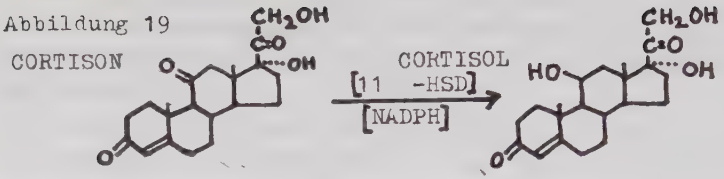
Arbeiten von BIRD (8) und SOLOMON (124) fand sich keinerlei Aktivität der 17α-Hydroxylase und der C_{20}-$_{21}$-lyase, jenen Enzymen, die den C_{21}-Steroiden die für die Androgene wichtige C_{19}-Steroid-Konfiguration geben könnten (vgl.Abb.1, Teil I.A.).- Zu dem gleichen Ergebnis einer nur geringfügigen Umwandlung von Pregnenolon zu Progesteron (0,2-2,53% der inkubierten Radioaktivität) kommen auch SCHINDLER et al. (1974 104). Damit dürfte außer Frage stehen, daß die foetale Lunge nicht in der Lage ist, aus placentären Vorläufern aktive Androgene zu bilden; beim Erwachsenen lassen sich die notwendigen Enzymmuster auf dem Δ4- und dem Δ5-Weg lediglich bis auf die Ebene des Dehydroepiandrosteron und des **Androstendion** verfolgen.

Die Weiterverstoffwechselung von Testosteron in Lungengewebe untersuchten HARTIALA et al. an Hähnen, Kaninchen und Ratten (1974 56). In den Lungen von Hähnen fand sich nach Inkubation mit ^{14}C-Testosteron nur eine relativ geringe Umsatzrate zu Monohydroxy-Monoketo-Steroiden (vom Gesamtumsatz jeweils 3,9% im Homogenat, 3,7% in der "soluble fraction"), davon wurden in erster Linie identifiziert: 5β-DHT sowie 5β-Androsteron in Homogenat und Mitochondrienfraktion, 5α-Androsteron in der "soluble fraction". Anteilmäßig am höchsten war die Metabolisierung zu 5β-Diolen (3α- und 3β-) in der "soluble fraction" (38%) und zu 5α-Diolen in der "non-soluble fraction" (37%). Dies deckt sich mit dem Befund von VERHOEVEN et al.(1975 143), welche die Aktivität der 5α-Reductase in Rattenlungen vor allem in der Mitochondrien- und der Mikrosomenfraktion lokalisierten.- Das **Androstendion** fiel in den obengenannten Untersuchungen von HARTIALA et al. vor allem im Homogenat an; es konnten damit folgende Enzyme im Lungengewebe von Hähnen nachgewiesen werden: 3α- und 3β-HSD, 17β-HSD sowie Δ4-5α- und 5β-Reductase.- Zu ähnlichen Ergebnissen kommt HARTIALA (1974 55) bei der Inkubation von ^{14}C-Testosteron mit Lungengewebe von Kaninchen. **Androstendion** fand sich bei allen Inkubationen in großen Mengen (5α-Androstan-Dion dagegen in einem Fall

nur in Spuren). Androsteron fand sich im Homogenat, DHT in der mitochondralen und in der mikrosomalen Fraktion, 5α-Androstan-3α,17β-Diol in Homogenat und Mikrosomenfraktion und das entsprechende 5β-Epimer in der "soluble fraction". Mithin lassen sich auch in der Kaninchenlunge 3α- und 3β-HSD, 17β-HSD und Δ4-5α- und 5β-Reductase nachweisen.- Gleichfalls HARTIALA et al. (1976 57) perfundierten isolierte Rattenlungen mit markiertem Testosteron. Je nach Anzahl der Durchläufe nahm das Testosteron ab (pro Durchlauf um ca. 4%), die "ausgespülten Metabolite" zu. Es fanden sich im Perfusat wiederum in erster Linie die Dihydroxysteroide, dann die Monohydroxy-Monoketo-Steroide, dann das Androstendion.. Von den identifizierten Steroiden der letztgenannten Art betrug der Anteil des 5α-DHT lediglich 5%, von dem 5α-Androstan-3α,17β-Diol fand sich viermal mehr als von seinem 3β-Epimer. Da das Testosteron in der Lunge relativ schnell verstoffwechselt wurde und die ausgeschiedenen Metabolite schwächere Androgene als das Testosteron sind, kommt HARTIALA zu dem Schluß, daß die Lunge eine wichtige Rolle im Testosteronkatabolismus spielen müsse: Immerhin würde die Übertragung seiner Ergebnisse auf in-vivo-Verhältnisse bedeuten, daß 50% des gesamten Testosteronkatabolismus der Ratte in der Lunge stattfindet.-

Daß die Lunge nicht nur - wie HARTIALA vermutet - eine katabole Funktion im Steroidmetabolismus hat, sondern vielmehr auch biologisch inaktive Steroide in aktive Hormone umsetzt kann, zeigen zwei Arbeiten, die im Folgenden genannt sein sollen. Es ist bekannt, daß Corticoide eine fördernde Wirkung auf Wachstum und Reifung der Lunge haben, wobei die Ketoform - das Cortison - ohne biologische Wirkung bleibt, jedoch beim Erwachsenen mit der aktiven Form - dem Cortisol - frei austauschbar ist. TORDAY et al.(1976 135) konnte zeigen, daß mit zunehmender Reifung Kaninchenfoeten zwischen dem 21. und dem 29. Tag mittels einer 11β-HSD und dem NADPH als Cofaktor diese Umwandlung vornehmen und damit die Reifung des

Abbildung 19



Lungengewebes vorantreiben kann (vgl.Abbildung 19).

Es wurde bereits daraufhingewiesen, daß die foetale Lunge offenbar in der Lage ist, aus Androgenen Oestrogene zu bilden (MENZEL et al., 1970 78 , anders dagegen WU et al., 1970 154 , die diesen Befund nicht bestätigen konnten). Da andererseits bekannt ist, daß die Oestrogene bei der Differenzierung des foetalen Neuroendokriniums eine entscheidende Rolle spielen (RYAN et al.,1972 103), gewann die Frage nach den Vorläufern der Oestrogene im Organismus und speziell nach dem **Androstendion**, als demjenigen Steroid, das am effektivsten in der Peripherie aromatisiert wird (SCHINDLER et al.,1972 106), Aktualität. SCHINDLER und FRIEDRICH (1972, 108) untersuchten dementsprechend die Umwandlung von **Androstendion** zu Oestron in foetalen Geweben. Für Cortex und Hypothalamus ergaben sich dabei Umsatzraten von 0,025 bzw. 0,4%. Es zeigte sich, daß vor allem die Leber (2,5%, aber auch Nebenniere (1,97%), Lunge (1,66%) und Niere (1,52%) in der Lage sind, über das **Androstendion** Oestrogene bereitzustellen. Diese Ergebnisse wurden durch SCHINDLER (1975 109) noch einmal bestätigt. Im Lichte dieser Untersuchungen und in Hinblick auf den Umstand, daß McDONALD et al. (1967 75) auch für in-vivoVerhältnisse nachweisen konnte, daß das **Androstendion** über eine periphere, extraglandulàre Aromatisation der wichtigste C_{19}-Steroid-Vorläufer ist, erscheint die Frage nach der Umwandlung von Testosteron zu **Androstendion** in foetalem Lungengewebe von Interesse.

2.) Ergebnisse

Von 14 männlichen und 2 weiblichen Foeten der 8.-24.SSW gelangte Lungengewebe zur Inkubation. Tabelle XVI-XVIII

Tabelle XVI: Einzelergebnisse foetales Lungengewebe

[% umgesetzte ^{14}C-markierte Radioaktivität]

Foet	Geschlecht	SSL (cm)	SFL (cm)	SSW	DHT	A.Diol	Δ4
Gü	männl.	10,5	15	8	0,5853	0,0554	2,7864
Ra	"	11	16	10	50,7788	0,0370	5,9609
Hü	"	9	12	11	0,4699	0,1142	0,5166
Si	"	-	-	11	4,7936	0,3170	12,6605
Fr	"	6	8	12	0,1725	0,0180	0,7612
Li	"	7,5	9,5	12	0,8789	0,3367	3,0340
Dü	"	6,5	9,5	13	0,2862	0,3398	3,5250
Tr	"	7,5	10	14	0,9006	0,0903	3,0729
Ei	weibl.	16,5	23,5	14/15	0,2054	0,0042	5,4734
Schmi	männl.	7,5	10	15	2,1887	0,3350	1,7449
Ki	"	11	15,5	15	0,4313	0,3457	4,5168
Ep	"	11	17	15	12,8636	0,0829	3,2419
Ge	"	12	18	18	0,2177	0,1832	1,0074
Tu	"	15	21	18	1,3656	0,2032	1,5203
Sa	weibl.	19,5	28,5	23/24	0,7621	0,2033	0,7345
La	männl.	20	28,5	24	1,0987	0,1366	1,2651

DHT=5α-Dihydrotestosteron; A.Diol=5α-Androstan-3β,17β-Diol; Δ4=Androstendion

Tabelle XVII: Statistische Größen (foetales Lungengewebe)

Geschlecht	Metabolit	n	$\bar{x}$ (x_{min}-x_{max})	Varianz	Standardabweichung
männl.	DHT	14	5,5568 (0,1725 -50,7788)	196,0755	14,0027
weibl.	DHT	2	0,4838 (0,2054 -0,7621)	0,1550	0,3936
männl.	A.Diol	14	0,2282 (0,0042 -0,8030)	0,0461	0,2079
weibl.	A.Diol	2	0,1038 (0,0042 -0,2033	0,0198	0,1408
männl.	4	14	3,2581 (0,5166 -12,6605)	9,9214	3,1104
weibl.	4	2	3,1070 (0,7345 -5,4794)	11,2570	3,3552

Tabelle XVIII: 5α/Δ4-Ratios foetales Lungengewebe

Foet	Geschlecht	SSL (cm)	SFL (cm)	SSW	5α/Δ4
Gü	männl.	10,5	15	8	0,2299
Ra	"	11	16	10	8,5248
Hü	"	9	12	11	1,1306
Si	"	-	-	11	0,4036
Fr	"	6	8	12	0,2502
Li	"	7,5	9,5	12	0,4006
Dü	"	6,5	9,5	13	0,1776
Tr	"	7,5	10	14	0,3224
Ei	weibl.	16,5	23,5	14/15	0,0382
Schmi	männl.	7,5	10	15	1,4463
Ki	"	11	15,5	15	0,1720
Ep	"	11	17	15	3,9934
Go	"	12	18	18	0,3979
Tu	"	15	21	18	1,4264
Sa	weibl.	19,5	28,5	23/24	1,3143
La	männl.	20	28,5	24	0,9764

gibt einen Überblick über die Einzelergebnisse, statistische Größen sowie die 5α/Δ4-Ratios. Abbildung 20 gibt einen graphischen Überblick über die Aktivität von 5α-Reductase 3β- und 17β-HSD in Abhängigkeit von der Zeit. Alle drei genannten Enzyme konnten auch im foetalen Lungengewebe nachgewiesen werden. Es fand sich bis auf eine Ausnahme - bei einem Foeten der 13.SSW - mehr Radioaktivität zu DHT als zum Diol umgesetzt. Dies steht nicht im Gegensatz zu den Befunden von HARTIALA et al.(55 , 56 , 57), bei denen sich - bei Kaninchen, Ratte und Hähnen - jeweils mehr Dihydroxysteroide als Monohydroxy-Monoketo-Steroide fanden. In diesen Untersuchungen waren auch die 5β-reduzierten Testosteronmetabolite mitberücksichtigt worden, die bekanntlich keine androgene Potenz besitzen und von HARTIALA unter dem Stichwort "Testosteronkatabolismus in der Lunge" aufgeführt worden waren.-

Ob das DHT und das 5α-Androstan-3β,17β-Diol in diesem Gewebe eine physiologische Rolle haben und welches diese wäre, kann hier nicht gesagt werden. Eine zeitliche Abhängigkeit des Testosteronumsatzes vom Reifestadium des

Foeten kann nur bedingt aus Abbildung 20 abgelesen werden. In der 18.-24.SSW finden wir einen allgemein erniedrigten Gesamtumsatz, wobei das **Androstendion** relativ gesehen noch zusätzlich abfällt: die $5\alpha/\Delta 4$-Ratios steigen etwa von der 15.SSW an auf Werte um 1. Es wäre von Interesse, ob sich dieser Trend in den darauffolgenden SSW fortsetzt. Beim Vergleich, der in dieser Arbeit untersuchten Gewebe (vgl.IV. Statistischer Vergleich) zeigte es sich aber auch, daß hinsichtlich ihrer Kapazität zur Umsetzung von Testosteron zu **Androstendion** die Lunge signifikant niedrigere Werte zeigte als Nebenniere, Rückenhaut, Niere, Leber und Darm; das einzige untersuchte Gewebe, welches allerdings nicht mit einem signifikanten Unterschied weniger Testosteron zu **Androstendion** umsetzte, war das Scrotalgewebe. Das heißt, daß die Lunge, obwohl in der Lage stärker als andere Organ **Androstendion** in Östron umzusetzen - z.B. Herz und Darm (SCHINDLER, 1975 109) -, andererseits aber weniger Substrat für diese Reaktion bereitstellen kann als die obengenannten Organe. - Ansonsten gab es - bis auf den Umstand, daß scrotales Gewebe eine höhere Aktivität der 5α-Reductase aufwies als Lunge und daß diese wiederum mehr DHT zu bilden vermochte als alle anderen untersuchten Organe - keine Auffälligkeiten. Immerhin vermag der letztgenannte Befund die Rolle der Lunge als paraendokrinem Organ zu unterstreichen. Hinsichtlich der Aktivität der 3β-HSD gab es einen statistisch signifikanten Unterschied nur gegenüber dem Scrotum. Auch hier kann eine vergleichende Aussage über einen Geschlechtsunterschied nicht gemacht werden, da die Zahl der Inkubationen mit Lungengewebe weiblicher Foeten (n=2) für eine statistische Auswertung nicht ausreichte.

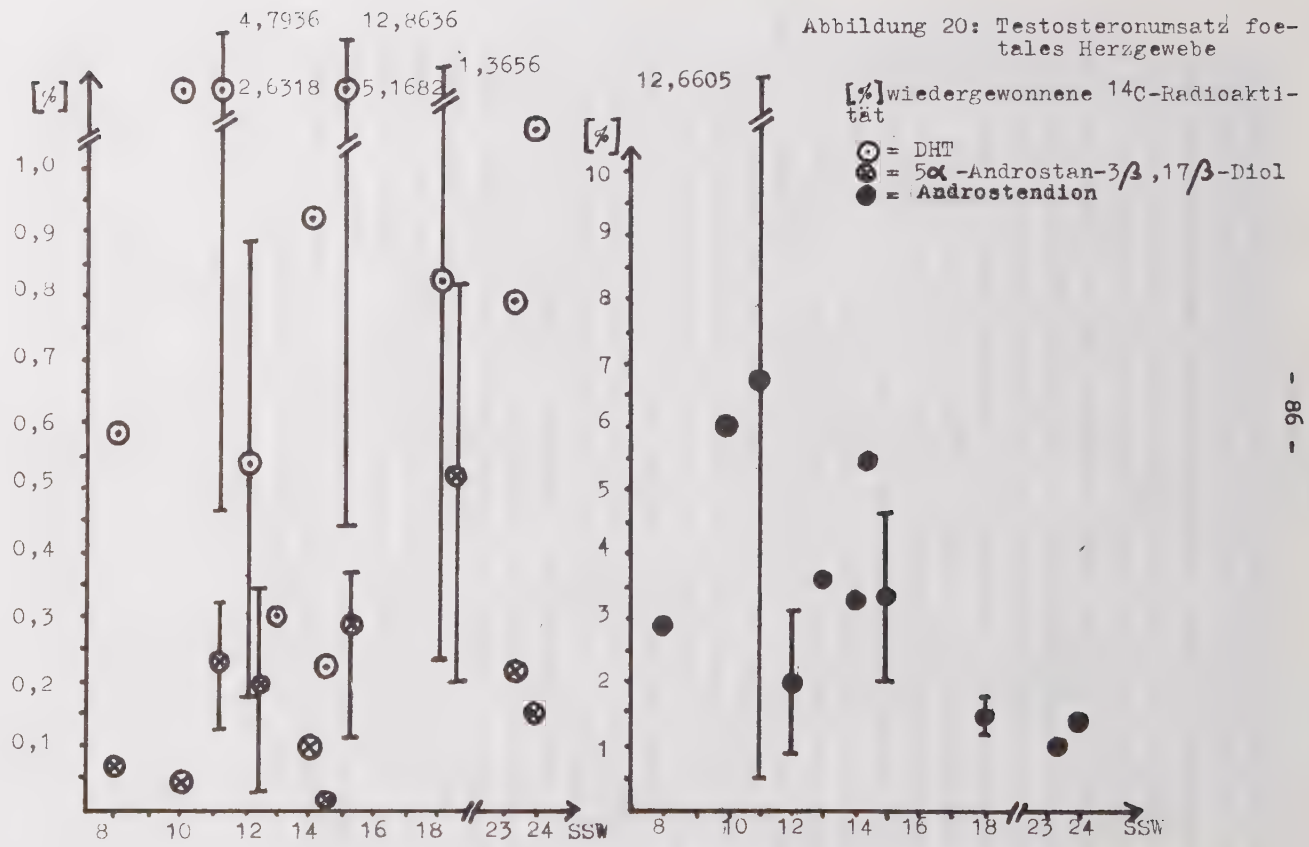


Abbildung 20: Testosteronumsatz foetales Herzgewebe

[%] wiedergewonnene ^{14}C-Radioaktivität

⊙ = DHT
⊗ = 5α-Androstan-3β,17β-Diol
● = Androstendion

E.Leber

1.) Literaturnachweis

Von den großen parenchymatösen Organen des Menschen spielt die Leber eine besondere Rolle für den Gesamtorganismus: Als zentrales Stoffwechselorgan vermittelt sie eine ganze Reihe von intermediären Stoffwechselschritten, über den portalen Kreislauf werden ihr die Bausteine der im Darm aufgenommenen Nahrung zugeführt, sie ist exokrine Drüse sowie derjenige Ort, an dem Entgiftung und Ausscheidung körpereigener und körperfremder Stoffe erfolgen. Als Teil des reticuloendothelialen Systems ist die Leber darüberhinaus Bestandteil der körpereigenen Abwehr (SIEGENTHALER,1973 121). Die Leberanlage tritt in der Mitte der 3.SSW als ventrale Ausbuchtung des Vorderdarms auf, aus der sich rasch die Leber - mit Gallenblase und Gallengängen - entwickelt. Bereits in der 10. SSW macht sie 10% des Gesamtgewichtes des Foeten aus. Dieser hohe Anteil ist am ehesten durch die foetale Hämatopoiese zu erklären, die das Organ bis zur 32.SSW übernimmt. Dann sinkt mit der Blutbildung auch das Gewicht der Leber bis zur Geburt sukzessive ab und macht dann nur noch 5% des Gesamtkörpergewichts aus (LANGMANN,1972 70).

So wie die Leber im Rahmen ihrer Entgiftungsfunktion zahlreiche körpereigene und körperfremde Stoffe inaktiviert und durch Oxydation, Reduktion oder Hydroxylierung sowie Konjugation mit Sulphaten oder Glucuroniden wasserlöslich und damit nierengängig macht, so wird auch zirkulierendes Testosteron aufgenommen, z.T. inaktiviert und ausscheidungsfähig gemacht. Im Urin des Erwachsenen erscheinen 5α- und 5β-Androstan-Diol - darunter auch das 3β,17β-Isomer (BERTHOU et al.,1972 7) -, Androsteron, Ätiocholanolon, Oestradiol, Oestron, Testosteronsulphat und -glucuronid; letzteres ist im Urin der geeignete Parameter zur raschen Beurteilung der Hodenfunktion, da die anderen Androgenmetabolite der Verstoffwechselung auch peripherer Organe entstammen können (SIEGENTHALER,1972 121).

Auch beim menschlichen Foeten wird der größere Anteil zirkulierenden Testosterons in der Leber abgefangen und metabolisiert. STERN et al.(1975 126) injizierten ^{14}C-Testosteron in die Vena umbilicalis von 7 Foeten. Knapp 51 % der gesamten Radioaktivität fand sich nach 3 Minuten in der Leber wieder. Diese erhöhte Aufnahmebereitschaft für zirkulierende Androgene steht im Zusammenhang mit der obengenannten Funktion der Leber diese zu inaktivieren. Hier sind einige Enzymuster zu nennen, die wir in anderen Organen nicht kennen. LISBOA et al.(1969 72) konnten nach Inkubation von markiertem Testosteron mit foetalen Lebermikrosomen 1β-, 2β-, 6β-, 6α-, 16α- und 18α-Hydroxytestosteron nachweisen. DEMISCH et al.(1969 22) kamen zu den gleichen Ergebnissen nach Perfusion der foetalen Leber mit radioaktivem Testosteron. Darüberhinaus konnte LISBOA und PLASSE (1972 73) die Umwandlung von Testosteron ebenfalls in foetalen Lebermikrosomen nachweisen.- Eingehend untersucht wurde der Testosteronstoffwechsel der Rattenleber in Hinblick auf eventuelle Geschlechtsunterschiede von OTA et al.(1972 92). Bei den männlichen Ratten machten 16α-, 7α- und 6β-Hxdroxylasen zu 36,8% im Homogenat und zu 15,3% in den Mikrosomen die Verstoffwechselung von Testosteron aus. Die biologische Funktion ist nicht für alle diese hydroxylierten Metabolite bekannt; das 11β-Hydroxytestosteron gilt aber als Androgen nur 1/3 so potent wie das Testosteron, seine anabole Wirkung ist um den Faktor 1/2,5 geringer. Entsprechend kann davon ausgegangen werden, daß die Umwandlung zu hydroxylierten Testosteronformen Teil eines Inaktivierungsmechanismus ist - vgl. auch BJØRKHEIM et al.(1972 9) -. Darüberhinaus wird hierdurch das eher lipophile Testosteron umgewandelt in eher wasserlösliche und damit nierengängige Metabolite. Im Unterschied zur weiblichen Ratte blieb allerdings beim Rattenmännchen immer noch mehr Testosteron unverstoffwechselt und damit als Androgen aktiv.- Ein weiterer Schritt zur Inaktivierung biologisch potenter Steroidhormone mit einer 3-oxo-Δ4-Struktur ist die Umwandlung in die entsprechenden 3α- oder 3β-Hydroxysteroide mit

5α - oder 5β -Struktur (i.e. Androsteron und Atiocholanolon). Die entsprechenden 3α - und 3β -HSD wurden für die menschliche Leber in den Mikrosomen nachgewiesen (BJØRKHEIM et al., 1976 10). Über sie ist im Folgenden noch zu sprechen.

Ein besonderer Aspekt des Steroidmetabolismus der Leber ist die Frage, inwieweit dieser durch Androgene geschlechtsspezifisch induziert wird und entsprechende Unterschiede zwischen den Geschlechtern bestehen. DENEF und DE MOOR (1970, 23) untersuchten die geschlechtsabhängige Differenzierung des Steroidmetabolismus der Rattenleber zum Zeitpunkt der Geburt: Nach ihren Ergebnissen wird die zunächst auf einen "weiblichen" Metabolismus programmierte Leber in den ersten 5 Tagen p.p. durch gonadales Testosteron auf einen entsprechenden "männlichen" umgepolt. Eine anschließende Kastration oder Behandlung mit Oestradiol kann diesen Vorgang nicht mehr rückgängig machen. Die Autoren vermuten, daß dieser Vorgang auf einer ähnlichen Basis von statten geht wie die bekannten Antigen/Antikörper-Reaktionen des Organismus. Während in der männlichen Rattenleber 3β -, 11β - und 17β -Hydroxysteroid-Oxidoreductasen und 20-Keto-Reductasen sowie Hydroxylasen überwiegen, findet sich bei der weiblichen Ratte ein erheblich höherer Anteil an 5α -Reductase. - Zu einem ähnlichen Ergebnis kommt im Übrigen die obengenannte Arbeit von OTA et al.(1972 92).- Offenbar ebenfalls abhängig von gonadalen Hormonen ist die Aktivität der 5β -Reductase in der Rattenleber: Die nachgewiesene Umwandlung von Testosteronglucuronid in 5β -DHT, 5β -Androsteron und 5β -Androstan-3α ,17β -Diol konnte bei männlichen Ratten durch Applikation von Oestradiol unterdrückt werden (GHRAF et al., 1973 42). Umgekehrt zeigten GUSTAFSSON und STENBERG (1974 51), daß nach der Geburt bestimmte Enzyme des Steroidstoffwechsels der Rattenleber durch Testosteron induziert werden können: So die 5α -Reductase durch kleinste Androgendosen unmittelbar nach der Geburt, die 2α -Hydroxylase, die 3β -HSD, die 17α -Hydroxysteroid- und die 5β -Reductase durch

höhere Testosterondosen 7 Tage nach der Geburt, sowie die 16α- und die 7α-Hydroxylase, die nach noch höheren Dosen auch noch 14 bis 30 Tage nach der Geburt - allerdings nur bis zu einem gewissen Grade - induziert werden konnten.- Offenbar spielen auch die hypophysären Gonadotropine in der Ausdifferenzierung des Steroidstoffwechsels der Leber eine Rolle. Zu diesem Schluß kommt DENEF (1974 24). Die Umwandlung der Ketogruppe an C-Atom Nr.3 des A-Ringes in eine Hydroxylgruppe erfolgt bei weiblichen Ratten eher in 3α-, bei männlichen dagegen eher in 3β-Position. Die Ausbildung dieses Stoffwechselschrittes erfolgt offenbar in Abhängigkeit von der geschlechtsspezifischen Ausdifferenzierung der Hypophyse.

Die obengenannten Untersuchungen handelten von Rattenlebern; die dort gewonnenen Ergebnisse können nur Hinweis auf die Verhältnisse im menschlichen Organismus sein. So lassen sich gewisse Geschlechtsunterschiede im Steroidstoffwechsel der Leber, die sich bei der Ratte finden, beim Menschen nicht reproduzieren. Bei der Vielfalt der Steroidisomere einiger Androgene werden bei verschiedenen Vertebraten offensichtlich doch auch unterschiedliche Stoffwechselvarianten bevorzugt. Es seien noch einmal diejenigen geschlechtsabhängigen Unterschiede im Steroidstoffwechsel genannt, die sich bei der Ratte finden ließen. GHRAF et al. (1972 41) fanden die Aktivität der 6β-Hydroxylase und der 16α-Hydroxylase bei männlichen gegenüber weiblichen Ratten signifikant erhöht, während die Aktivität der 7α-Hydroxylase gleich ausfiel. In einer eingehenden Studie über die Verstoffwechselung von Testosteron in der Rattenleber fanden OTA et al.(1972 92) in den zentrifugierten Fraktionen der Leberzelle folgende Metabolite: Im Homogenat überwogen bei den Rattenmännchen die hydroxylierten Testosterone (36,8% gegenüber 7,8% bei den Weibchen) sowie das unverstoffwechselte Testosteron (9,7% gegenüber 1,7%), während bei den Weibchen die 5α-Metabolite überwogen (71% gegenüber 12,1% -

in der Hauptsache Androsteron, DHT und 5α-Androstan-Dion). Auch in den Mikrosomen überwogen bei den Rattenmännchen hydroxyliertes und unverstoffwechseltes Testosteron (15,3%: 9,6% bzw. 51%:2%); bei den Weibchen war das 5α-Androstan-3α,17β-Diol der Hauptmetabolit (71%:16%). Die bei der männlichen Ratte höher als die der 5α-Reductase anfallende Aktivität der 5β-Reductase fand sich vor allem in der "supernatant fraction" (73%). - Bereits oben erwähnt wurde der geschlechtsabhängige Unterschied in der Aktivität der 3α- und der 3β-HSD: DENEF (1974 24) ermittelte mehr 3α-Isomere 5α-reduzierter Testosteronmetabolite in weiblichen Rattenlebern. VAN DOORM et al. (1975 141) fanden die Aktivität der 3β-HSD bei männlichen Ratten 2,5-3,5 mal höher als die der 3α-HSD. Und BJØRKHEIM et al. (1976 10)stellten fest, daß das Verhältnis von 3α- zu 3β-Hydroxysteroiden bei Rattenmännchen 1, bei Weibchen aber 10 beträgt.

Die geschlechtsabhängigen Unterschiede im Steroidmetabolismus der Rattenleber konnten für die menschliche Leber so nicht nachgewiesen werden: PLASSE und LISBOA (1973 97) konnten in der foetalen Leber die Umwandlung von **Androstendion** in Testosteron und Epitestosteron in Cytosol und Mikrosomen nachweisen. BJØRKHEIM et al.(1972 9) fanden in den Mikrosomen verschiedene Hydroxylasen, 5α-Reductase sowie 3β- und 17β-HSD. Dabei fanden sich - speziell bei der Umwandlung von **Androstendion** in 5α-Androstan-Dion sowie von Progesteron in 5α-Pregnan-Dion - keine Unterschiede zwischen männlichen und weiblichen Spezies, ferner nur eine geringfügige Umwandlung von Testosteron in DHT, allerdings eine beträchtliche Umwandlung von Testosteron in **Androstendion** und umgekehrt. Speziell letzterer Befund konnte in den Versuchen der vorliegenden Arbeit bestätigt werden. In einer weitergehenden Untersuchung konnten BJØRKHEIM et al. (1976 10) bestätigen, daß in Hinblick auf die Aktivität der 3α- und der 3β-HSD kein geschlechtsabhängiger Unterschied in der menschlichen Leber besteht. Hier wurde die

Umwandlung zahlreicher Steroide mit einer 3-oxo-Δ^4-Struktur durch die 5α-Reductase und die 3α- und 3β-HSD untersucht. Dabei wurde festgestellt, daß die 3α-HSD vor allem bei C_{19}- und bei C_{21}-Steroiden, die 3β-HSD bei C_{24}- und C_{27}-Steroiden aktiv ist. Es ist von Interesse, daß bei den Inkubationen mit DHT und NADPH - bei denen sich im Übrigen noch die größten Geschlechtsunterschiede in der Ratio der 3α- und der 3β-hydroxylierten Steroide feststellen ließen - in männlichem Lebergewebe das 5α-Androstan-3β,17β-Diol der überwiegende Metabolit war, was der in dieser Arbeit gewählten Versuchsanordnung entspricht.- Die bereits oben zitierte Arbeit von STERN et al.(1975 126) weist dagegen auf einen auch beim Menschen bestehenden, leberspezifischen Geschlechtsunterschied hin. Nach Durchflutung der Vena umbilicalis von Foeten der 16.-18.SSW mit ^{14}C-Testosteron findet sich bei den weiblichen Foeten mehr (26,5-36,8%) 5β-reduzierte Metabolite als bei den männlichen (15,9-24,8%), während die 5α-Metabolite umgekehrt bei den männlichen überwogen. (Anders dagegen bei den Ratten: Ota et al.(1972 92) fanden dieses Verhältnis genau umgekehrt.) STERN et al. weisen daraufhin, daß die Rolle der 5β-Reductase in der Leber zu sehen ist in Zusammenhang mit der Porphyrin- und damit der Hämoglobin-Synthese, deren Ort bis zur 32.SSW ja vornehmlich die Leber ist. Die Aktivität dieses Enzyms war im Übrigen zunächst nur in der Leber nachgewiesen worden. Die 5β-Metabolite finden sich als Glucuronide im Harn (BERCOVICI et MAUVAIS-JARVIS,1971 6).

Wie auch in den anderen foetalen Geweben ist die Umwandlung von Testosteron zu **Androstendion** in Hinblick auf eine periphere Aromatisierung des letzteren zu Oestron von Interesse. Auf das klinische Interesse an dieser Frage - die Herkunft hoher Oestronspiegel nach der Menopause im Zusammenhang mit der Atiologie des Carcinoms des Corpus uteri - wurde in der Einleitung bereits hingewiesen (SCHINDLER,1973 107). McDONALD et al.(1969 76) untersuchten die Ausnutzung

des Plasma-**Androstendion** für eine periphere Aromatisierung in der Leber bei Frauen und kamen zu dem Ergebnis, daß die Leber kein bedeutsamer Ort der Oestrogenbiosynthese sei. Andererseits konnten TAYLOR et al.(1974 134) nach Perfusion menschlicher Foeten mit ^{14}C-Progesteron zeigen, daß die Leber - neben der Placenta - in der Lage ist Oestriol zu bilden. Dabei fanden sich aber keine der zu erwartenden Intermediärstoffwechselprodukte - **Androstendion**, Testosteron, Oestron oder Oestradiol.- Wird der foetalen Leber direkt **Androstendion** als Substrat angeboten, vermag sie mehr als alle anderen vergleichbaren Gewebe Oestron zu bilden. Dies ergibt sich aus Untersuchungen SCHINDLER's: Durchschnittlich 25,0% (1973 108) und 21,47% (1975 109) des inkubierten **Androstendion**s wurden aromatisiert. Das wäre ein Hinweis, daß die foetale Leber - neben ihrer Kapazität zirkulierende Androgene zu binden, zu verstoffwechseln und zu inaktivieren - auch in dieser Hinsicht eine aktive Rolle im Steroidstoffwechsel spielt.

2.)Ergebnisse

Von 13 männlichen und 2 weiblichen Foeten der 8.-24.SSW wurden je 100 mg Lebergewebe in der beschriebenen Weise mit ^{14}C-Testosteron inkubiert. Die Einzelergebnisse, statistischen Werte und 5α/Δ4-Ratios sind den Tabellen XIX-XXI zu entnehmen. Abbildung 21 gibt einen Überblick über die zeitliche Abhängigkeit der festgestellten Umsatzraten.- Auffallend ist gerade auch gegenüber den anderen untersuchten Organen die allgemein erniedrigte Umwandlung von Testosteron zu DHT. Dies deckt sich mit den Befunden von BJØRKHEIM et al.(1972 9). Wenn man allerdings davon ausgeht, daß 5α-Reductase und 3β-HSD getrennte Enzymsysteme sind, so muß auch der von uns gefundene hohe Anteil an 5α-Androstan-3β-,17β-Diol, das ja aus DHT gebildet wird, mitberücksichtigt werden.- Die Leber ist das einzige Organ in der vorliegenden Untersuchung, in welchem der letztgenannte

Tabelle XIX: Einzelergebnisse foetales Lebergewebe

[% umgesetzte ^{14}C-markierte Radioaktivität]

Foet	Geschlecht	SSL (cm)	SFL (cm)	SSW	DHT	A.Diol	Δ^4
Gü	männl.	10,5	15	8	0,0972	0,0900	9,7579
Ra	"	11	16	10	0,0213	1,8670	0,3334
Hü	"	9	12	11	0,4521	0,1578	11,4842
Si	"	-	-	11	0,0594	19,7598	18,8260
Fr	"	6	8	12	0,0333	0,0136	12,8634
Li	"	7,5	9,5	12	0,0391	25,1242	**1,5635**
Dü	"	6,5	9,5	13	1,9812	5,3553	35,9942
Tr	"	7,5	10	14	0,4679	0,0091	0,5015
Ei	weibl.	16,5	23,5	14/15	0,3478	0,0389	91,3900
Schmi	männl.	7,5	10	15	0,2969	0,2227	18,2477
Ki	"	11	15,5	15	1,0238	**0,3870**	39,5838
Ep	"	11	17	15	0,1337	**0,1425**	6,3960
Tu	"	15	21	18	0,6650	0,8003	1,6617
Sa	weibl.	19,5	28,5	23/24	0,3059	0,2003	17,4616
La	männl.	20	28,5	24	0,3691	0,0752	31,4419

DHT=5α-Dihydrotestosteron; A.Diol=5α-Androstan-3β,17β-Diol; Δ^4= **Androstendion**

Tabelle XX: Statistische Größen (foetales Lebergewebe)

Geschlecht	Metabolit	n	$\bar{x}$ (x_{min}-x_{max})	Varianz	Standardabweichung
männl.	DHT	13	0,3569 (0,0972 -1,9812)	0,2828	0,5318
weibl.	DHT	2	0,3268 (0,3059 -0,3478)	-	-
männl.	A.Diol	13	**4,1542** (0,0091 -25,1242)	69,1434	8,3186
weibl.	A.Diol	2	0,1196 (0,0389 -0,2003)	-	-
männl.	4	13	**14,5119** (0,3334 -39,5838)	186,7752	13,6618
weibl.	4	2	54,4258 (17,4616 -91,3900)	-	-

Tabelle XXI: 5α/Δ4-Ratios foetales Lebergewebe

Foet	Geschlecht	SSL (cm)	SFL (cm)	SSW	5α/Δ4
Gü	männl.	10,5	15	8	0,0191
Ra	"	11	16	10	5,6637
Hü	"	9	12	11	0,0531
Si	"	-	-	11	1,0527
Fr	"	6	8	12	0,0036
Li	"	7,5	9,5	12	16,7364
Dü	"	6,5	9,5	13	0,2038
Tr	"	7,5	10	14	0,9511
Ei	weibl.	16,5	23,5	14/15	0,0042
Schmi	männl.	7,5	10	15	0,0284
Ki	"	11	15,5	15	0,0356
Ep	"	11	17	15	0,0431
Tu	"	15	21	18	0,8818
Sa	weibl.	19,5	28,5	23/24	0,0289
La	männl.	20	28,5	24	0,0141

Metabolit im Durchschnitt mit höheren Umsatzraten anfiel. Allerdings fällt bei näherer Betrachtung auf, daß bei dreizehn untersuchten männlichen Foeten, das DHT siebenmal höher lag als das Diol, während letzteres nur sechsmal, aber mit entsprechend höheren Einzelwerten, den Hauptanteil der 5α-reduzierten Metabolite ausmachte. Hier liegt der Grund, weswegen der Durchschnittswert für das 5α-Androstan-3β, 17β-Diol wohl höher liegt als für das DHT, die statistische Prüfung der Einzelwerte diesem Umstand gerade gegenüber anderen untersuchten Geweben keine Signifikanz beimißt.- Es ist von Interesse festzuhalten, daß nach den Ergebnissen von BJØRKHEIM et al.(1976 10) DHT in der Leber nach Inkubation mit NADPH vorwiegend zu 5α-Androstan-3β,17β-Diol umgewandelt wird. Die 3α/3β-Ratio betrug in diesen Versuchen 0,9. Sie verschob sich zugunsten des 3α-Epimers, wenn NADH als Protonendonator angeboten wurde.- Es bleibt festzuhalten, daß die Aktivität der 5α-Reductase in der foetalen Leber vergleichbar ist mit den anderen untersuchten Organen (vgl.IV.Statistischer Vergleich), daß jedoch das anfallende DHT rascher als anderswo durch die 3β-HSD weiterverstoffwechselt wird. In der Gesamtumwandlung von Testosteron zu

Abbildung 21
[%]
1,0
0,9
0,8
0,7
0,6
0,5
0,4
0,3
0,2
0,1
8 10 12 14 16 18 23 SSW
1,9812
12,5689
9,9582
1,8470
[%]
13
16
14
12
10
8
6
4
2
8 10 12 14 16 18 23 SSW
31,4419
21,4091
91,3900
35,9442

5α-reduzierten Metaboliten finden wir die Leber immerhin nach Scrotum und Lunge an dritter Stelle aller untersuchten Organe. Der gleiche Befund ergibt sich auch hinsichtlich der Aktivität der 17β-HSD: Hier liegt das Lebergewebe statistisch signifikant über den in Scrotum und Lunge erzielten Umsatzraten, ebenfalls signifikant unter denen des Darmgewebes, in dem sich die höchste Aktivität der 17β-HSD feststellen ließ (s.u.), und hat insgesamt damit die dritthöchste Kapazität der untersuchten Gewebe in diesem Punkt. Damit stellt die Leber auch - wie schon von BJØRKHEIM et al. (1972 9) gezeigt - in beträchtlicher Menge das Substrat für die von SCHINDLER (108 , 109) nachgewiesene Aromatisation von Androstendion zu Oestron in der Foetalzeit bereit.

Werden die Einzelergebnisse für das foetale Lebergewebe gegen die Zeit aufgetragen (vgl.Abb.21), so lassen sich keine wesentlichen Rückschlüsse ziehen. Lediglich die Werte für das 5α-Androstan-3β,17β-Diol zeigen von der 10.-13.SSW einen erkennbaren Gipfel; die Frage, ob diesem eine physiologische Bedeutung beizumessen ist, kann hier nicht beantwortet werden. Da lediglich zwei weibliche Foeten zur Inkubation gelangten, können auch keine schlüssigen Hinweise auf das oben angesprochene Problem der Geschlechtsabhängigkeit im Steroidmetabolismus der Leber gegeben werden.

Erläuterungen zu
Abbildung 21: Testosteronumsatz in foetalem Lebergewebe
[%] wiedergewonnene ^{14}C-Radioaktivität
⊙ = DHT
● = 5α-Androstan-3β,17β-Diol
● = Androstendion

F.Niere

1.) Literaturnachweis

Die definitive Nierenanlage des Foeten entwickelt sich von der 4.SSW an aus intermediärem Mesoderm, das sich nach kardial hin an die Urnieren (Mesonephron) anschließt und als metanephrogenes Blastem bezeichnet wird. Die ableitenden Harnwege und die Sammelkanälchen entstehen aus Ausknospungen aus dem distalen Anteil des Wolff'schen Ganges, während die exkretorischen Einheiten (Bowmann'sche Kapsel und Tubulussystem) aus dem metanephrogenen Blastem gebildet werden (LANGMAN, 1972 70). Es handelt sich also bei der Niere um Gewebe verschiedener entwicklungsgeschichtlicher Herkunft, wobei von dem Urnierengang bekannt ist, daß er in seiner Ausbildung vom Testosteron abhängig ist (SIITERI et WILSON,1974 122 , SCHULTZ et WILSON,1974 114). Dieser Umstand läßt unter anderem die Frage nach dem Steroidmetabolismus dieses parenchymatösen Organs von Interesse sein.

SUZUKI und TAMOKI (1973 131) untersuchten die Umwandlung von Testosteron zu DHT und dessen Weiterverstoffwechselung zu 5α-Androstan-3α,17β-Diol in Rattennieren; dabei wurde bei den männlichen Tieren die 5α-Reductase im Zellkern und teilweise in den Mikrosomen, die 3α-HSD hauptsächlich in letzteren lokalisiert. In der Cytosolfraktion wurden zwei Makromoleküle mit einem ungefähren Molekulargewicht von 231 000 isoliert, welche DHT stärker als Testosteron banden und die offenbar für den Transfer des Hormons in den Zellkern verantwortlich waren. Wurde nämlich DHT mit Cytosol praeinkubiert, konnte es später auch in den Kernen nachgewiesen werden, was bei Praeinkubation ohne Cytosol nicht gelang. Ein Geschlechtsunterschied bestand insofern, als bei den Weibchen die 3α-HSD sich ausschließlich in der Cytosolfraktion fand und die Aktivität der 5α-Reductase erheblich niedriger lag.- Die Untersuchungen von VAN DOORM et al.(1975 141) legen aber nahe, daß die Affinität der obengenannten Androgen-bindenden Makromoleküle eine vergleichsweise

schwache Bindungskapazität haben. Nach dreistündiger in-vivo-Infusion ausgewachsener Rattenmännchen mit markiertem DHT zeigte sich, daß Leber, Prostata, Samenblase, Nebenniere und Nebenhoden der Ratte mehr Androgen zu binden vermochten als Nierengewebe. Bei Infusion mit 5α-Androstan-3α,17β-Diol war die Bindungskapazität der Niere etwas stärker; hier hatten Nebenniere, Leber und Prostata eine höhere Affinität. Im ersten Versuch mit DHT lagen 28% der aus der Niere extrahierten Radioaktivität als 5α-Androstan-3α,17β-Diol und 3,4% zu dem 3β-Epimer verstoffwechselt vor, bei Infusion von 3α-Diol fand sich nur 1,7% zu 3β-Diol umgewandelt.-

Das Interesse am Steroidmetabolismus der Niere umfaßt nicht allein den Nachweis einzelner enzymatischer Aktivitäten. Die Niere ist zwar kein Zielgewebe von Androgenen im engeren Sinne, obwohl - wie bereits erwähnt - Teile der Nachniere aus dem bekanntermaßen Testosteron-abhängigen Wolff'schen Gang stammen. Andererseits sind über die hormonellen Befindlichkeiten der entsprechenden Entwicklungsschritte keine Arbeiten bekannt. Verschiedene Untersuchungen haben aber gezeigt, daß der anabole Effekt der Androgene sich im Nierengewebe besonders gut auf molekularer Ebene verfolgen läßt, wobei offenbar besonders Mäusenieren geeignet sind. KOCHAKAIN (1969 67) konnte den Einfluß von Androgenen auf die Proteinbiosynthese in Mäusenieren nachweisen. ANDALOVIC und KOCHAKAIN (1969 2) stellten am gleichen Organ fest, daß die Aktivität der RNS-Polymerase, der eine entscheidende Bedeutung bei der Translation der genetischen Information von der DNS auf die RNS, von welcher wiederum die Aminosäurensequenz des zu bildenden Proteins bestimmt wird (BUDDECKE,1971 15), mit Kastration der Maus abnimmt, ein Phänomen, das durch Gabe von Testosteron-Propionat rückgängig gemacht werden kann. Leider geben die genannten Arbeiten keinen Aufschluß darüber, ob nun das Testosteron oder einer seiner Metabolite das aktive Androgen vor Ort ist. VAN DOORM et al.(1975 141) äußern zwar die Vermutung, daß DHT und Androstan Diol - da sie das Hauptkontingent der gefundenen Metabolite darstellen - in

Hinblick auf die Existenz androgenbindender Proteine im Cytosol der Nierenzellen der Ratten wohl eine Rolle in der Auslösung "androgener" Reaktionen im Nierenstoffwechsel spielten, die von ihnen infundierten Androgene liegen aber außerhalb des Wirkungsbereiches der 5α-Reductase, weswegen die Frage, ob nun das Testosteron oder eines seiner 5α-reduzierten Metabolite das entscheidende, intrazellulär wirksame Androgen ist, unbeantwortet bleibt.- Es ist noch zu erwähnen, daß sich neben den genannten Androgenrezeptoren auch noch solche für Glucocorticoide (FINDER et al.,1973 100) sowie für Aldosteron (MORRIS et al.,1973 101) nachweisen ließen.

STERN et al.(1975 126) verwandten bei ihren Perfusionsversuchen an menschlichen Foeten markiertes Testosteron und kommen ebenfalls zu dem Schluß, daß das Nierengewebe zirkulierende Androgene schwächer als andere Gewebe zu binden vermag. Allerdings ist ein direkter Vergleich mit der obengenannten Arbeit von VAN DOORN (141) nicht möglich, da andere Androgene, Perfusionszeiten, Versuchsobjekte und z.T. andere (Vergleichs-)Organe untersucht wurden. Die Metabolite des Testosteron im Nierengewebe werden von STERN et al. nicht genannt.- Die Frage, ob Nierengewebe im Zuge peripherer Aromatisation **Androstendion** in Oestron umwandeln kann, untersuchte SCHINDLER (1973 108 , 1975 109). Es fanden sich Umwandlungsraten von 1,52% bzw. 0,3934 (0,009-1,659) %. Es zeigte sich dabei, daß nach Leber und Nebenniere jeweils Lunge und Niere von den untersuchte foetalen Organen die größte Kapazität für diesen Stoffwechselschritt besaßen.-

2.) Ergebnisse

Nierengewebe von 9 Foeten der 8.-24.SSW gelangte zur Inkubation mit markiertem Testosteron. Tabellen XXII-XXIV geben einen Überblick über die Einzelergebnisse, statistischen werte und 5α/Δ4-Ratios. Abbildung 22 veranschaulicht die zeitliche Abhängigkeit der gefundenen Einzelergebnisse.- Die Aktivität der 5α-Reductase, der 3β-HSD und der 17β-HSD konnte auch in diesem Gewebe nachgewiesen werden. In

Tabelle XXII: Einzelergebnisse foetales Nierengewebe

[% umgesetzte ^{14}C-Radioaktivität]

Foet	Geschlecht	SSL (cm)	SFL (cm)	SSW	DHT	A.Diol	Δ4
Gü	männl.	10,5	15	8	1,2493	0,3873	21,3584
Ra	"	11	16	10	0,9459	0,9098	13,5220
Tr	"	7,5	10	14	0,4211	0,0485	13,8706
Li	weibl.	16,5	23,5	14/15	0,5751	0,0183	17,3883
Ki	männl.	11	15,5	15	1,0802	0,1013	17,8497
Ep	"	11	17	15	0,2278	0,2644	5,0925
Go	"	12	18	18	0,6333	0,8445	11,7390
Sa	weibl.	19,5	28,5	23/24	0,2843	0,2889	4,1885
La	männl.	20	28,5	24	0,3842	0,0463	29,7659

DHT=5α-Dihydrotestosteron; A.Diol=5α-Androstan-3β,17β-Diol; Δ4=**Androstendion**

Tabelle XXIII: Statistische Größen (foetales Nierengewebe)

Geschlecht	Metabolit	n	$\bar{x}$ (x_{min}-x_{max})	Varianz	Standardabweichung
männl.	DHT	7	0,7060 (0,2278 -1,0802)	0,1519	0,3898
weibl.	DHT	2	0,4297 (0,2843- 0,5751)	0,0423	0,2056
männl.	A.Diol	7	0,3717 (0,0463- 0,9098)	0,1347	0,3670
weibl.	A.Diol	2	0,1536 (0,0183- 0,2889)	0,0366	0,1913
männl.	4	7	16,1712 (5,0925- 29,7659)	61,5389	7,8447
weibl.	4	2	10,7884 (4,1885- 17,8497)	87,1174	9,3337

erster Linie wurde **Androstendion** gebildet, wie auch aus Tabelle XXIV (5α/Δ4-Ratios) ersichtlich wird. Schlüsse auf ein relatives zu- oder Abnehmen einer der drei Metabolite lassen sich aus Abbildung 22 nicht ziehen, relativ konstant bleiben die Umsatzraten zu **Androstendion**. Im Vergleich zu

Tabelle XXIV: 5α/Δ4-Ratios foetales Nierengewebe

Foet	Geschlecht	SSL (cm)	SFL (cm)	SSW	5α/Δ4
Gü	männl.	1o,5	15	8	0,0766
Ra	"	11	16	10	0,1372
Tr	"	7,5	10	14	0,0338
Ei	weibl.	16,5	23,5	14/15	0,0341
Ki	männl.	11	15,5	15	0,0661
Ep	"	11	17	15	0,0966
Go	"	12	18	18	0,1258
Sa	weibl.	19,5	28,5	23/24	0,1368
La	männl.	20	28,5	24	0,0144

den anderen untersuchten Geweben ist die Aktivität der 5α-Reductase relativ schwach, statistisch signifikant liegt sie aber nur unter der scrotalen Gewebes. Dieser Befund kann keinen Aufschluß geben über die eingangs aufgeworfene Frage hinsichtlich der Herkunft von Teilen des Nierengewebes aus dem Wolff'schen Gang. Wie bereits erwähnt gilt das Testosteron als das Androgen, welches die männliche Ausdifferenzierung dieses Ganges bewirkt. Dies wurde für Ratten (SCHULTZ et WILSON,1974 114), Kaninchen (WILSON,1973 150) und auch für den menschlichen Foeten (SIITERI et WILSON,1974 122) nachgewiesen. Ferner ist bekannt, daß der Urnierengang zur Zeit der Ausbildung der männlichen Genitale nur eine geringe Kapazität zur 5α-Reduktion von Testosteron besitzt (150). Beim Kaninchenfoeten fand sich bis zum 27.Tag keine, beim menschlichen erst ab der 12.-13.SSW geringfügige Umsatzraten zu DHT (mit Ausnahme der Samenbläschen). Die niedrige Aktivität der 5α-Reductase, wie sie sich in der vorliegenden Arbeit fand, könnte in Beziehung stehen zu den obengenannten Befunden. Da aber - wie gesagt - die Niere entwicklungsgeschichtlich als Mischgewebe anzusehen ist, außerdem die Entnahmestellen an den foetalen Nieren durchaus variierten, können hier keine Schlüsse gezogen werden in der Richtung, daß dieses Gewebe in seinem Steroidmetabolismus dem des Wolff'schen Ganges ähnelte. Schwerer wiegt hier der Hinweis von STERN et al.(1975 126), daß die Aufnahme von zirkulie-

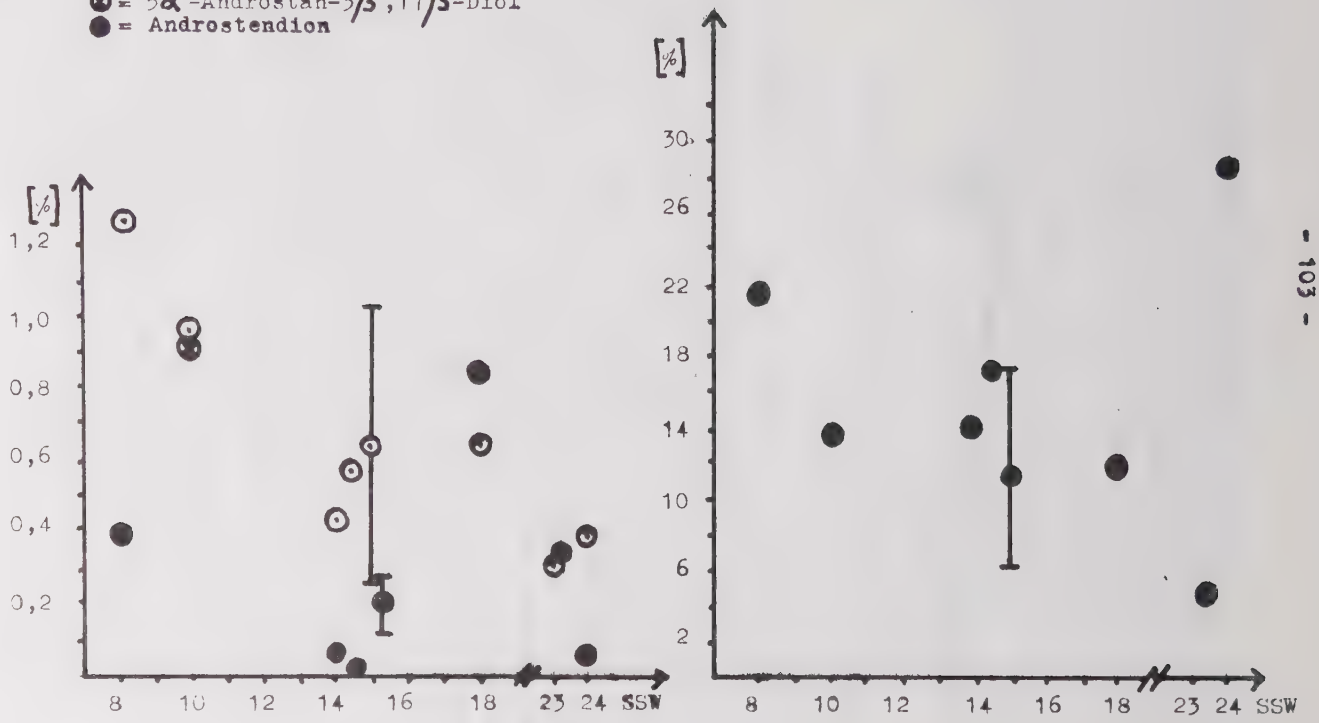
Abbildung 22: Testosteronumsatz in foetalem Nierengewebe

[%] wiedergewonnene ^{14}C-Radioaktivität

⊙ = DHT

⊗ = 5α-Androstan-3β,17β-Diol

● = Androstendion



rendem Testosteron in diesem Organ relativ niedrig ist, was vermuten ließe, daß die definitive Anlage der foetalen Niere (Metanephron) eine solche Ähnlichkeit nicht besitzt.- Stärker als in einer Reihe anderer Organe - allerdings ohne statistische Signifikanz - fällt die 3β-HSD in's Gewicht. Auffällig - wie bereits erwähnt - auch im statistischen Sinne ist die Aktivität der 17β-HSD: Sie liegt signifikant über der von Lunge, Rückenhaut, Herz und Scrotum und war insgesamt am zweitstärksten nach foetalem Darm.

G.Nebenniere

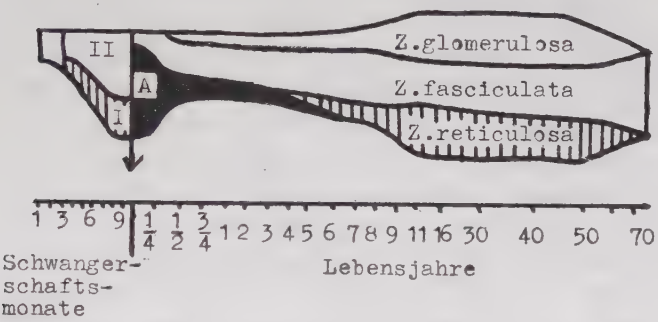
1.) Literaturnachweis

Die Nebenniere ist bekanntermaßen ein endokrines Organ, in dessen äußeren Anteilen, der Nebennierenrinde, in der Zona glomerulosa das Aldosteron, in der Zona fasciculata die Glukocorticoide und in der Zona reticularis Androgene, Oestrogene und Gestagene produziert werden. Das Nebennierenmark dagegen gibt die Katecholamine Adrenalin und Noradrenalin ab. Die beiden genannten Anteile des Organs sind entwicklungsgeschichtlich unterschiedlicher Herkunft. Die Nebennierenrinde entstammt dem Mesoderm (SIEGENTHALER,1970 121); es entsteht zunächst ein primitiver Cortex, der sich nach der Geburt rasch zurückbildet. Zurück bleibt von diesem Anteil lediglich die Zona reticularis (LANGMAN,1972 70). Die Zona glomerulosa - wie die Zona fasciculata der definitiven Anlage der Nebennierenrinde entstammend - bildet sich erst nach der Geburt heraus. (vgl.Abbildung 23) Dagegen entstammt das Nebennierenmark der Neuralrinne und ist damit ektodermaler Herkunft.-

Speziell in Hinblick auf den Steroidstoffwechsel ist die Nebennierenrinde von Interesse. Abbildung 24 gibt einen Überblick über die Biosynthese der Nebennierenrinden hormone unter Berücksichtigung bekannter Enzymdefekte. Im Gefolge klinischer Beobachtung eben solcher Enzymdefekte wurde es deutlich, daß eine enge Verflechtung des Corticoid- und des

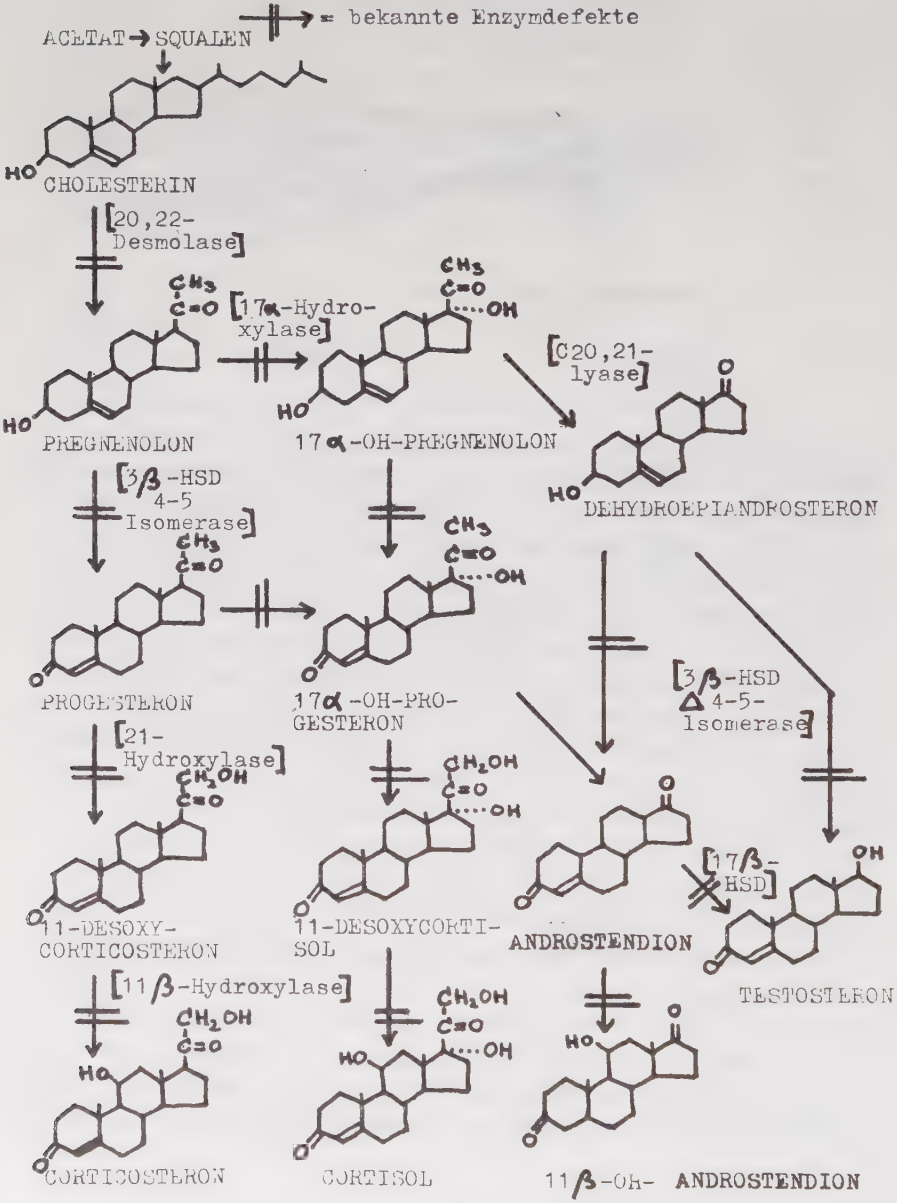
Abbildung 23: Lebenskurve der Nebennierenrinde (nach SIEGENTHALER,1970 121)

I = foetale, primitive NNR
II= Anlage der definitiven NNR
A = Involution



Androgenstoffwechsels in der Nebennierenrinde besteht. (vgl. Abbildung 24) Darüberhinaus wurden bei gonadektomierten Patienten 17-Keto-Steroide im Urin festgestellt, parallel zur Entwicklung eines Nebenierentumors oder einer -hyperplasie fiel eine Veränderung von Patientinnen zu maskulinem Äußeren hin auf (BLOCH et al.,1957 103), es stellten sich Amenorrhoe, Hirsutismus, tiefe Stimme, Abflachung der Brüste sowie hohe Spiegel von 17-Hydroxycorticosteroiden und 17-Keto-Steroiden im Urin ein (GOWER et STERN,1969 49). Inkubationen von Gewebe aus Nebennierenrinden-Carcinomen sowie von Patienten mit Adrenogenitalem Syndrom (AGS) mit radioaktiv markierten Androgenen sowie deren Vorläufer ergab folgende Befunde: Markiertes Acetat, Pregnenolon und 17α-Hydroxy-Pregnenolon wurden bei Vorliegen eines AGS in erster Linie zu Dehydroepiandrosteron umgesetzt (daneben zu **Androstendion** und 11β-Hydroxy- **Androstendion**); die Aktivität der 11β-Hydroxylase stieg nach Gabe von ACTH um das 5-fache (BLOCH et al.,1957 103). Bei einem virilisierenden Nebennieren-Carcinom ergab sich derselbe Befund: Der Mangel an 3β-HSD-Δ4-5-Isomerase führte hier - wie auch Abbildung 24 verdeutlicht - zu einem Ausweichen auf einen anderen Stoffwechselweg, der

Abbildung 24: Schema der Biosynthese der NNR-Steroide; Zusammenhang der Stoffwechselwege von Corticosteroiden und Androgenen



ein vermehrtes Anfallen der Androgene erbrachte. 11β-, 17α- und 21α-Hydroxylase zeigten normale Aktivität (CAMERON et al.,1970 18). In einem anderen Fall wurden auf Grund des gleichen Enzymmangels die Umwandlung von Pregnenolon und Progesteron in Δ16-Steroide beobachtet (3β-Hydroxy-Androstan-5-,16-Dien bzw. Androstan-4-,16-Dien-3-on), allerdings nicht aus Dehydroepiandrosteron und Testosteron (GOWER et STERN, 1969 49). NISHIDA und JUNGMAN (1974 90) bestätigten noch einmal die zuerst genannten Ergebnisse: Beim Nebennieren-Ca ist der Hauptweg des Steroidstoffwechsels über Pregnenolon, 17α-Hydroxy-Pregnenolon, Dehydroepiandrosteron zum **Androstendion** . Zu einem geringeren Teil werden auch das Progesteron bzw. das 17α-Hydroxy-Progesteron in diesen Stoffwechselweg miteinbezogen.

Auch bei gesundem Nebennierenrindengewebe läßt sich die enge Verflechtung von Androgen- und Corticoidstoffwechsel beobachten. Dabei zeigt es sich, daß die Androgene insbesonders die 11β-Hydroxylase kompetitiv zu dem "eigentlichen" Nebennierenrindenhormonen, den Corticoiden, besetzen. SHARMA et al.(1963 118) inhibierten die Umwandlung von 11-Desoxycorticosteron durch Gaben von **Androstendion** , Dehydroepiandrosteron und -sulfat sowie Testosteron. Bei Progesteron und 17α-Hydroxy-Progesteron ließ sich dieser Effekt nicht beobachten.- Die 11β-Hydroxylase ist ACTH-abhängig: GRIFFITHS und GLICK (1965 50) zeigten einen Anstieg der Aktivität dieses Enzyms im Übergang von Zona fasciculata zur Zona reticularis nach Gabe von ACTH. Die logische Folge der genannten Befunde ist, daß sich nach Inkubation von Nebennierenrindengewebe mit Testosteron in erster Linie das 11β-Hydroxy-Testosteron - neben **Androstendion** und 11β-Hydroxy-**Androstendion** - fand, ersteres z.B. nach Perfusion einer Hundenebenniere sowohl im venösen Abfluß wie auch im Gewebe selber. Auch in dieser Untersuchung (WASSERMANN et al., 1973 147) stieg die 11β-Hydroxylisierung nach ACTH-Gabe an. Lokalisiert wurde die Aktivität des zuständigen Enzyms in der menschlichen Nebenniere im Homogenat. CHANG et al.

(1963 19) fanden dabei als zusätzlichen Metaboliten - nach Inkubation von markiertem Testosteron - Adrenosteron (4-Androsten-3,11,17-Trion).

In allen genannten Untersuchungen wurde mit unphysiologisch hohen Substratkonzentrationen gearbeitet, um die M ö g l i c h k e i t e n des Steroidstoffwechsels der Nebennierenrinde zu erforschen. Die Substanzen mit androgener, oestrogener oder gestagener Wirkung werden aber unter physiologischen Bedingungen in der Nebenniere in so kleinen Mengen gebildet, daß sie nicht in erster Linie als Nebennierenrindenhormone angesehen werden können (SIEGENTHALER,1972 121). Unter diesen Bedingungen dürfte auch die 11β-Hydroxylierung von Testosteron kaum eine Rolle spielen. SEGAL und RAESIDE (1975 117) z.B. maßen die Androgenkonzentration in der Nebenniere von Schweinefoeten. Testosteron, Dehydroepiandrosteron und 5-Androsten-3β,17β-Diol fanden sich bei Männchen und Weibchen in jeweils sehr geringen Konzentrationen (5,7 bzw.2,9; 7,3 bzw. 5,8; 5,0 bzw. 4,1 ng/Paar Nebennieren). Quantitativ wichtigstes Androgen war das Androstendion , welches ja auch unter physiologischen Bedingungen Bestandteil der Stoffwechselwege der Steroide in der Nebenniere ist (30,6 bzw. 21,0 ng/Paar Nebennieren). - Ebenso spielen auch die Oestrogene nur eine untergeordnete Rolle in der Nebennierenrinde. Höheren Plasmaspiegeln adrenaler Herkunft liegt denn auch in aller Regel ein Oestrogen-bildender Tumor zugrunde, der eine sog. adrenale Feminisierung bewirkt (SIEGENTHALER,1972 121). Ebenso haben auch adrenalektomierte Patientinnen, die mit Cortison substituiert werden, oder eine Patientin mit isoliertem ACTH-Mangel normal bis normalhohe Oestrogenspiegel im Plasma (ISHIMARU,1975 61).-

Die in der vorliegenden Arbeit interessierenden Enzyme, die unmittelbar das Testosteron verstoffwechseln, wurden z.T. bereits untersucht. GOLDMAN und KLINGELE (1974 44) fanden in der Nebenniere der Ratte die Aktivität der 5α-Reductase, die nach einem Maximum in der Pubertät auf niedrigere Werte

im geschlechtsreifen Alter sank; die Aktivität der 17β-HSD blieb nach einem vorpubertärem Anstieg konstant hoch. Die Autoren vermuten eine Steuerung speziell der 5α-Reductase über die Hypothalamus-Hypophysen-Achse.- Hinsichtlich der schon mehrfach angesprochenen peripheren Aromatisation von **Androstendion** durch die extragonadal gebildetes Oestrogen bereitgestellt würde, fällt die Nebenniere gegenüber der Leber erheblich ab (0,6056 bzw. 1,97 % Umwandlung von **Androstendion** zu Oestron gegenüber 25,0 bzw. 21,47 % in der Leber), aber immerhin liegt die Nebenniere in dieser Kapazität noch vor allen anderen untersuchten Organen (SCHINDLER,1973 108 , 1975 109). Auch die Befunde von STERN et al.(1975 126) belegen, daß die Nebenniere weniger auf Grund physiologischer Funktion sondern eher wegen der engen sterischen Verwandschaft der Corticosteroide und der Androgene eine potentielle, d.h. im pathologischen Fall androgene Wirkung entfalten kann. Gegenüber anderen Organen des menschlichen Foeten (Leber, Gehirn, Lunge und Darm) vermochte die Nebenniere nur in geringen Mengen zirkulierendes, markiertes Testosteron zu binden.

2.) Ergebnisse

Von Foeten der 15.-24.SSW gelangte fünfmal je 100 mg adrenales Gewebe zur Inkubation. Die einzelnen Ergebnisse, Mittelwerte, Standardabweichungen und Varianzen sowie die 5α/Δ 4-Ratios sind in den Tabellen XXV-XXVII wiedergegeben. Abbildung 25 gibt die Ergebnisse in Abhängigkeit von der Zeit wieder. Obgleich auch bei diesem Gewebe alle untersuchten enzymatischen Aktivitäten nachzuweisen waren, zeigte es sich, daß auch im Vergleich mit den anderen untersuchten foetalen Geweben die Umwandlung von Testosteron zu DHT und 5α-Androstan-3β,17β-Diol relativ niedrig ist. Da auch die Aktivität der 17β-HSD niedrig war, blieben die Ratios von 5α-Metaboliten zu **Androstendion** im gleichen Rahmen wie bei den anderen untersuchten Geweben. Auffällig erscheint angesichts

Tabelle XXV: Einzelergebnisse foetales Nebennierengewebe

[% umgesetzte 14C-Radioaktivität]

Foet	Geschlecht	SSL (cm)	SFL (cm)	SSW	DHT	A.Diol	Δ4
Ki	männl.	11	15,5	15	1,4318	0,3167	10,3569
Ep	"	11	17	15	0,1770	0,0761	10,7639
Go	"	12	18	18	0,0958	0,3614	10,9792
Sa	weibl.	19,5	28,5	23-24	0,4509	0,1018	2,6077
La	männl.	20	28,5	24	0,3554	0,1267	9,3593

DHT=5α-Dihydrotestosteron; A.Diol=5α-Androstan-3β,17β-Diol; Δ4=Androstendion

Tabelle XXVI: Statistische Größen (foetales Nebennierengewebe)

Geschlecht	Metabolit	n	$\bar{x}$ (x_{min}-x_{max})	Varianz	Standardabweichung
männl.	DHT	4	0,5150 (0,0958 -1,4318)	0,3853	0,6207
weibl.	DHT	1	0,4509	-	-
männl.	A.Diol	4	0,2202 (0,0761 -0,3614)	0,0196	0,1399
weibl.	A.Diol	1	0,1018	-	-
männl.	Δ4	4	10,3684 (9,3593 -10,9792)	0,5160	0,7183
weibl.	Δ4	1	2,6077	-	-

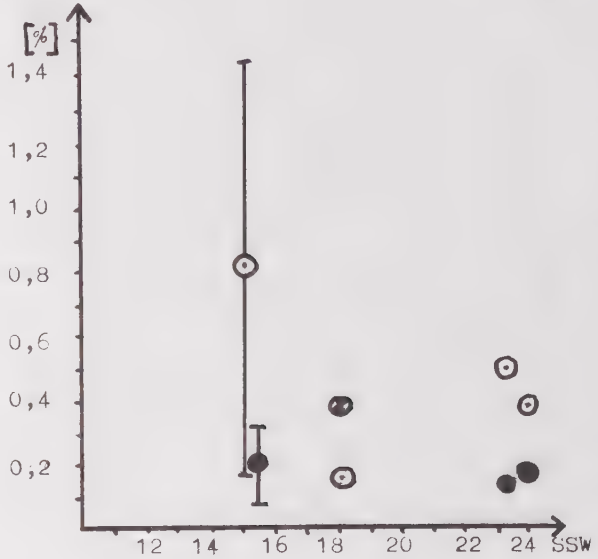
Tabelle XXVII: 5α/Δ4-Ratios foetales Nebennierengewebe

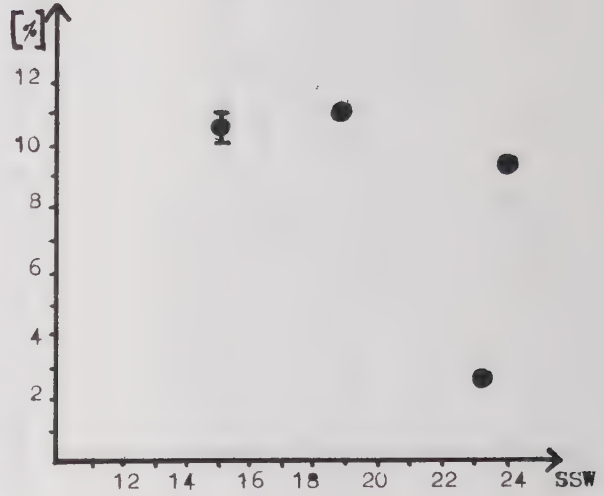
Foet	Geschlecht	SSL (cm)	SFL (cm)	SSW	5α/Δ4
Ki	männl.	11	15,5	15	0,1688
Ep	"	11	17	15	0,0235
Go	"	12	18	18	0,0416
Sa	weibl.	19,5	28,5	23-24	0,2219
La	männl.	20	28,5	24	0,0515

Abbildung 25: Testosteronumsatz in foetalem Nebennierengewebe

[%] wiedergewonnene ^{14}C-Radioaktivität

⊙ = DHT
● = 5α-Androstan-3β,17β-Diol
● = Androstendion





der relativ konstanten Werte für **Androstendion** der niedrige entsprechende Wert des einzigen untersuchten weiblichen Foeten. Eine Abhängigkeit aller gefundenen Werte von der Zeit lassen sich aus Abbildung 25 nicht herleiten.- Die Befunde der vorliegenden Arbeit decken sich mit denen aus der Literatur insofern, als die Nebenniere für den Testosteronstoffwechsel unter normalen Verhältnissen kaum eine Rolle spielt. Dies zeigt sich auch im Vergleich mit den anderen untersuchten Geweben: Es fanden sich fast die niedrigsten Kapazitäten für 5α-Reductase und 3β-HSD - allerdings war die Differenz nur in einem Falle gegenüber Scrotalgewebe signifikant -, während die der 17β-HSD immerhin noch signifikant über der entsprechenden von Lunge und Scrotum, aber unter der von Darmgewebe lag.

H. Darm

1.) Literaturnachweis

Auch der Darm gehört zu jenen foetalen Geweben, die bislang nur sehr wenig auf ihre Kapazität zur Verstoffwechselung von Testosteron hin untersucht wurden. Dabei zeigte sich in den bereits genannten Untersuchungen von STERN et al.(1975 126), daß nach Injektion von ^{14}C-Testosteron in die Nabelvene sich nach 30 Minuten von den untersuchten foetalen Geweben nach Leber, Gehirn und Lunge im Darm der vierthöchste Anteil an Radioaktivität ansammelte. Leider fehlt in dieser Arbeit auch hier die Auflistung der gebildeten Metabolite. Im Zuge der Fragestellung nach der peripheren, extraglandulären Aromatisation von **Androstendion** zu Oestron findet sich nach Inkubation von markiertem **Androstendion** im Darmgewebe nach Leber, Nebenniere und Niere eine ähnlich hohe Umwandlungsrate (0,29%) wie in Lungengewebe (SCHINDLER, 1975 109). Bereits diese Befunde deuten daraufhin, daß der Darm eine hohe Kapazität zur Anreicherung und Verstoffwech-

selung von Androgenen besitzt. Auf folgenden Tatbestand sei in diesem Zusammenhang noch verwiesen: Die Elimination von Steroiden aus dem Fruchtwasser kann auf dreierlei Weise erfolgen: durch Diffusion durch die mütterlichen Fruchthüllen sowie die Haut des Foeten, daneben aber auch vor allem durch Schlucken von Fruchtwasser im Darmtrakt des Foeten (SCHINDLER,1972 105). Nun bedingt eine passive Diffusion in ein Gewebe nicht gleich auch eine aktive Verstoffwechselung am gleichen Ort, aber der Hinweis von GOEBELSMANN et al.(1966, 43), daß nach Injektion von radioaktiv markierten Steroiden in das Fruchtwasser sich die höchste Konzentration von allen foetalen Geweben im Darm fand, zeigt, daß der foetale Darm eine wichtige Rolle im foetalen Steroidstoffwechsel spielt. In diese Richtung weisen auch z.T. die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit.

2.) Ergebnisse

Von sieben männlichen Foeten wurden jeweils 100 mg Darmgewebe inkubiert. Einzelergebnisse, statistische Werte sowie die Δ 4/5α -Ratios gehen aus den Tabellen XXVIII-XXX hervor. Abbildung 26 veranschaulicht die Abhängigkeit der Einzelergebnisse von der Zeit. Eine lineare Veränderung von der 8. auf die 15.SSW läßt sich für keine der untersuchten enzymatischen Aktivitäten ablesen. Alle drei Enzyme ließen sich auch in diesem Gewebe nachweisen. Es fällt zunächst einmal der relativ hohe Anteil der 5α-Reductase auf, der in der 8.SSW zu einer Δ 4/5α -Ratio von >1 führt. Lediglich Scrotum erbrachte - statistisch signifikant - höhere Umsatzraten zu DHT. Aber obwohl der Unterschied zu den anderen untersuchten Geweben statistisch nicht signifikant ist, fällt gerade doch die Umsatzrate von Testosteron zu DHT doppelt und dreimal so hoch gegenüber diesen aus. Die Aktivität der 3β-HSD erscheint dagegen relativ schwach.- Bei weitem übertroffen werden dagegen die beiden Enzyme von der 17β-HSD: Darm war in der vorliegenden Untersuchung das-

Tabelle XXVIII: Einzelergebnisse foetales Darmgewebe

[% umgesetzte ^{14}C-Radioaktivität]

Foet	Geschlecht	SSL (cm)	SFL (cm)	SSW	DHT	A.Diol	Δ 4
Gü	männl.	10,5	15	8	1,2428	0,4484	1,6489
Ra	"	11	16	10	1,8523	0,3902	13,3698
Hü	"	9	12	11	0,3011	0,1991	45,7718
Fr	"	6	8	12	0,3375	0,0335	38,8850
Tr	"	7,5	10	14	0,6209	0,0860	33,1657
Schmi	"	7,5	10	15	1,8042	0,2619	37,1304
Ep	"	11	17	15	0,3929	0,1794	31,5263

DHT=5α-Dihydrotestosteron; A.Diol=5α-Androstan-3β,17β-Diol; Δ 4= **Androstendion**

Tabelle XXIX: Statistische Größen (foetales Darmgewebe)

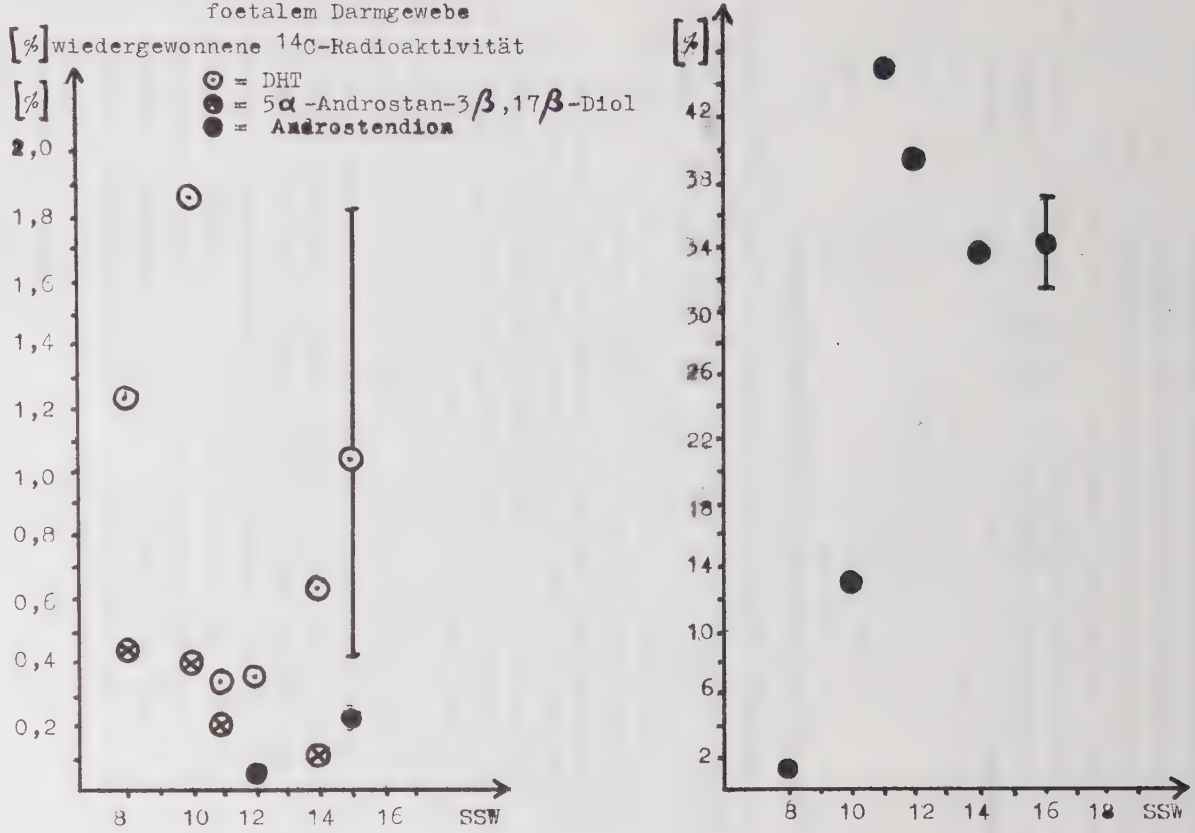
Geschlecht	Metabolit	n	$\bar{x}$ (x_{min}-x_{max})	Varianz	Standard-abweichung
männl.	DHT	7	0,9360 (0,3011 -1,8523)	0,4738	0,6884
männl.	A.Diol	7	0,2284 (0,0335 -0,4484)	0,0229	0,1512
männl.	Δ 4	7	28,7885 (1,6489 -45,7718)	243,4766	15,6037

Tabelle XXX: 5α/Δ4-Ratios foetales Darmgewebe

Foet	Geschlecht	SSL	SFL	SSW	5α/Δ4
Gü	männl.	10,5	15	8	1,0256
Ra	"	11	16	10	0,1677
Hü	"	9	12	11	0,0109
Fr	"	6	8	12	0,0009
Tr	"	7,5	10	14	0,0213
Schmi	"	7,5	10	15	0,0566
Ep	"	11	17	15	0,0181

jenige Gewebe, welches am stärksten Testosteron zu **Androstendion** umzusetzen vermochte. Darin unterschied es sich signifikant gegenüber Lunge, Nebenniere, Rückenhaut, Leber, Herz und Scrotum und lag - wenn auch nicht statistisch signifi-

Abbildung 26: Testosteronumsatz in foetalem Darmgewebe



kant - doch deutlich über den Werten von Niere und Kopfhaut. Das Ansteigen der Aktivität der 17β-HSD führte von der 10. SSW an zu einem deutlichen Abfall der 5α/Δ 4-Ratios, wie aus Tabelle XXX ersichtlich wird. Darmgewebe wäre nach diesen Befunden eine wichtige Schaltstelle im Steroidstoffwechsel der foeto-placentären Einheit. Es wäre von Interesse, ob sich die gefundenen hohen Umsatzraten von Testosteron zu **Androstendion** über die 20.SSW und möglicherweise über die Geburt hinaus fortsetzen.

IV.Statistischer Vergleich (Zusammenfassung)

In Hinblick auf die in I.L. gestellten Fragen läßt sich nach den durchgeführten Untersuchungen Folgendes feststellen:

1.) In allen untersuchten Geweben ließ sich die Aktivität von 5α-Reductase, 3β-HSD und 17β-HSD nachweisen.

2.) Die Umsatzraten von Testosteron zu den in dieser Arbeit interessierenden Metaboliten wurden bereits in den Abschnitten III.A-H. bei der Behandlung der jeweiligen foetalen Gewebe angegeben. In denjenigen Geweben, die bekanntermaßen androgenabhängig sind, war zu differenzieren, durch welchen Metaboliten des Testosteron die androgene Wirkung entfaltet wurde. Da jedoch das genannte Enzymmuster auch in anderen foetalen Organen nachgewiesen werden konnte, die als nicht androgensensibel im engeren Sinne gelten, müssen noch andere Faktoren in Rechnung gestellt werden, die die androgene Wirkung vermitteln. Auf die Bedeutung der cytoplasmatischen und nucleären Rezeptorproteine wurde eingangs hingewiesen (I.G.)

3.) Es wurde bereits auf statistisch signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen untersuchten Geweben hingewiesen. Abbildung 27-29 fassen noch einmal die Ergebnisse des

Abbildung 27: Testosteronumsatz in foetalen Geweben zu DHT - Statistischer Vergleich (nur ♂)
S=Signifikant; NS=Nicht Signifikant

Gewebe	x̄	Scrotum	Lunge	Darm	Kopfhaut	Niere	Rückenhaut	Herz	Nebenniere	Leber
Scrotum	17,4584		S	S	S	S	S	S	S	S
Lunge	5,5568			NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Darm	0,9360				NS	NS	NS	NS	NS	NS
Kopfhaut	0,7543					NS	NS	NS	NS	NS
Niere	0,7060						NS	NS	NS	NS
Rückenhaut	0,5856							NS	NS	NS
Herz	0,5166								NS	NS
Nebenniere	0,5150									NS
Leber	0,3569									

Abbildung 28: Testosteronumsatz in foetalen Geweben zu 5α -Androstan-3β ,17β -Diol - Statistischer Vergleich (nur ♂)
S=Signifikant; NS=Nicht Signifikant

Gewebe	x̄	Leber	Scrotum	Niere	Herz	Kopfhaut	Darm	Rückenhaut	Lunge	Nebenniere
Leber	4,1542		NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Scrotum	0,4553			NS	NS	NS	NS	NS	S	NS
Niere	0,3717				NS	NS	NS	NS	NS	NS
Herz	0,3020					NS	NS	NS	NS	NS
Kopfhaut	0,2732						NS	NS	NS	NS
Darm	0,2284							NS	NS	NS
Lunge	0,2282								NS	NS
Rückenhaut	0,2245									NS
Nebenniere	0,2202									

statistischen Vergleichs zusammen. Dabei wurden die Organe nach durchschnittlich erzielten Umsatzraten zu einer orientierenden Rangfolge angeordnet.

4.) Auf die Einordnung der ermittelten Umsatzraten von Testosteron zu **Androstendion**, DHT und 5α-Androstan-3β,17β-Diol in den foetalen Geweben wurde an Ort und Stelle bereits eingegangen.

Abbildung 29: Testosteronumsatz in foetalen Geweben zu **Androstendion** - Statistischer Vergleich (nur ♂)
S=Signifikant; NS=Nicht Signifikant

Gewebe	$\bar{x}$	Darm	Niere	Leber	Kopfhaut	Nebenniere	Rückenhaut	Herz	Lunge	Scrotum
Darm	28,7854		NS	S	NS	S	S	S	S	S
Niere	16,1712			NS	NS	NS	S	S	S	S
Leber	14,5119				NS	NS	NS	NS	S	S
Kopfhaut	12,8686					NS	NS	NS	NS	NS
Nebenniere	10,3684						NS	NS	S	S
Rückenhaut	7,6313							NS	S	S
Herz	5,5535								NS	NS
Lunge	3,2581									NS
Scrotum	2,3471									

Anmerkung: Abbildungen 27 - 29 basieren auf der Statistischen Auswertung, wie sie nach II.L. (S.44) vorgenommen wurde. Die Tabellen XXXI-XXXIII geben die Ergebnisse der Berechnungen für die einzelnen untersuchten Metabolite wieder.

Tabelle XXXI: Scheffe-Test für Mittelwerte DHT nach logarithmischer Umwandlung $\alpha = 0,05$

	1	6	4	7	8	3	2	5
9	2,27539	2,76763	2,94110	3,04298	3,21740	3,56236	3,62735	4,06376
	2,20315	2,54398	2,54398	2,54398	2,39848	2,30111	2,98308	2,23121
1		0,49223	0,66571	0,76758	0,94200	1,28696	1,35195	1,78837
		2,20315	2,20315	2,20315	2,03341	1,91759	2,69829	1,83313
6			0,17347	0,27535	0,44977	0,79473	0,85972	1,29613
			2,54398	2,54398	2,39848	2,30111	2,98308	2,23121
4				0,10188	0,27630	0,62126	0,68625	1,12266
				2,54398	2,39848	2,30111	2,98308	2,23121
7					0,17442	0,51398	0,58437	1,02078
					2,39848	2,30111	2,98308	2,23121
8						0,34496	0,40995	0,84637
						2,13917	2,86001	2,06379
3							0,06499	0,50141
							2,77886	1,94978
2								0,43641
								2,72126

1 = Lunge
2 = Nebenniere
3 = Rückenhaut
4 = Niere
5 = Leber
6 = Darm
7 = Kopfhaut
8 = Herz
9 = Scrotum

Tabelle XXXII: Sukzessive Paarvergleiche für die Umsatzraten zu 5α-Androstan-3β,17β-Diol (vgl.II.L. S.44). Mittelwerte und Standardabweichungen sieh.Einzelergebnisse des jeweiligen Organs

Organ		n_1	n_2	t	F
1	2	14	4	0,0715	2,2076
1	3	14	11	-1,1273	488,9997
1	4	14	7	-1,1544	3,1157
1	5	14	13	-1,7680	1600.4408
1	6	14	7	-0,0016	1,8905
1	7	14	7	-0,4264	1,6305
1	8	14	9	-0,3827	10,7485
1	9	14	6	-1,8206	2,8380
2	3	4	11	-0,5889	1079,5318
2	4	4	7	-0,7788	6,8784
2	5	4	13	-0.9247	3533,1859
2	6	4	7	-0,0879	1,1677
2	7	4	7	-0,3650	3,5996
2	8	4	9	-0.2323	23,7287
2	9	4	6	-1.2560	6,2652
3	4	11	7	0,7016	156,9446
3	5	11	13	-0,9035	3,2729
3	6	11	7	0,7842	924,4656
3	7	11	7	0,7582	299,9033
3	8	11	9	0,8399	45,4948
3	9	11	6	0,6037	172,3069
4	5	7	13	-1,1873	513,6621
4	6	7	7	0,9555	5,8904
4	7	7	7	0,5757	1,9109
4	8	7	9	0,2432	3,4497
4	9	7	6	-0,4176	1,0979
5	6	13	7	1,2328	3025,6718
5	7	13	7	1,2185	981,5499
5	8	13	9	1,3756	148,8993
5	9	13	6	1,0719	563,9410
6	7	7	7	-0,3879	3,0825
6	8	7	9	-0,2786	20,3203
6	9	7	6	-1,5611	5,3652
7	8	7	9	-0,1054	6,5920
7	9	7	6	-1,0662	1,7405
8	9	9	6	-0,5036	3,7874

Organschlüssel: sieh.Tabelle XXXI

Tabelle XXXIII: Sukzessive Paarvergleiche für die Umsatzraten zu Androstendion (vgl.II.L.,S.44). Mittelwerte und Standardabweichungen sieh. Einzelergebnisse des jeweiligen Organs

Organ		n_1	n_2	t	F
1	2	14	4	-4,4436	18,7511
1	3	14	11	-2,4102	4,0409
1	4	14	7	-5,4652	6,3608
1	5	14	13	-3,0037	19,2921
1	6	14	7	-6,0345	25,1672
1	7	14	7	-2,3726	22,8954
1	8	14	9	-0,8498	9,2187
1	9	14	7	0,7520	13,2655
2	3	4	11	0,7804	75,7705
2	4	4	7	-1,4433	119,2721
2	5	4	13	-0,5934	361,7484
2	6	4	7	-2,3055	471,9121
2	7	4	7	-0,3285	429,3130
2	8	4	9	0,9931	172,8614
2	9	4	7	15,7674	1,4135
3	4	11	7	-2,4936	1,5741
3	5	11	13	-1,4846	4,7743
3	6	11	7	-4,0227	6,2282
3	7	11	7	-0,9989	5,6660
3	8	11	9	0,6554	2,2814
3	9	11	7	2,2943	53,6042
4	5	7	13	0,2940	3,0330
4	6	7	7	-1,9109	3,9566
4	7	7	7	0,5194	3,5994
4	8	7	9	2,3958	1,4493
4	9	7	7	4,6350	84,3797
5	6	13	7	-2,1234	1,3045
5	7	13	7	0,2490	1,1868
5	8	13	9	1,7001	2,0927
5	9	13	7	2,3239	55,9209
6	7	7	7	1,9529	1,0992
6	8	7	9	3,6990	2,7300
6	9	7	7	4,4761	333,8569
7	8	7	9	1,2017	2,4836
7	9	7	7	1,8673	303,7199
8	9	9	7	0,8885	122,2917

Organschlüssel: sieh.Tabelle XXXI

LITERATURVERZEICHNIS

1) ABRAMOVICH,D.R., ROWE,P., Foetal plasma testosterone levels at midpregnancy and at term; relationship to foetal sex, J.of Endocrinol. 56 (1973), 621-622

2) AUDALOVIC,N., KOCHAKIAN,C.D., Androgen regulation of RNA polymerase activity in isolated mouse kidney nuclei, Biochim.Biophys.Acta 182 (1969), 382-393

3) BAILLIE,A.H., FERGUSON,M.M., HART,D.M., Developments in steroid histochemistry, Academic Press, N.Y., 1966

4) BAULIEU,E.E., LASNITZKI,I., ROBEL,P., Metabolism of testosterone and action of metabolites on prostate glands growing in organ culture, Nature 219 (1968), 1155-1156

5) BAULIEU,E.E., Some aspects of the mechanism of action of steroid hormones, Molecular and Cellular Biochemistry, Vol.7, Nr.3 (June 1975), 157-163

6) BERCOVICI, J.P., MAUVAIS-JARVIS,P., Testosterone metabolism in liver cirrhosis, Rev.Europ.Etudes Clin. et Biol.Nr.8, Vol.XVI (1971), 805-810

7) BERTHOU,F., BARDOU,L., FLOCH,H.H., Identification of 5α-Androstane-3β/17β-diol in human urine, J.of Ster.Biochem.Vol.3(1972), 819-823

8) BIRD,C.E., WIQUIST,N., DICZFALUSY,E., SOLOMON,S., Metabolism of progesterone by the perfused previable human fetus, J.of Clin.Endocrinol.26 (1966), 1144-1154

9) BJÖRKHEIM,I., EINARSSON,J., GUSTAFSSON,A., SOMELL,A., Metabolism of 3β-hydroxy-Δ5 and 3-oxo-Δ4-C_{19} and C_{21} steroids in human liver microsomes, Acta Endocrin.71 (1972), 569-598

10) BJÖRKHEIM,I., EINARSSON,K., HELLERS,G., WIKVALL,K., Reduction of 3-oxo-steroids in human liver microsomes, Acta Endocrin.81(1976), 530-536

11) BLOCH,E., DORFMAN,R.I., PINCES,G., The conversion of acetate to C_{19}-steroids by human adrenal glands slices, J.of Biol.Chem.224 (1957), 737-750

12) BRUCHOVSKY,N., WILSON,J.D., The intranuclear binding of testosterone and DHT by rat prostate, J.of Biol.Chem.243 (1968), 5953-5960

13) BRUCHOVSKY,N., WILSON,J.D., The conversion of testosterone in 5α-androstane-17β-ol-3-one by rat prostate in vivo and in vitro, J.of Biol.Chem.243 (1968), 2012-2021

14) BSUIN,P., ANCEL,P., Recherches sur les cellules interstitielle du testicule des mammiferes, Arch.Zool.Experim. Gen., Ser.IV, 1 (1903), 437-526

15) BUDDECKE,E., Grundriß der Biochemie, de Gruyter, Berlin (1971)

16) BURIC,L., BECKER,H., PETERSEN,C., VOIGT,K.D., Metabolism and mode of action of androgens in target tissues of male rats, Acta Endocrin.69 (1972), 153-164

17) CALANDRA,R.S., BLAQUIER, .A., Receptors for androgens in rat epidydimis.Interactions with 5α-Androstane-3α-17β-diol, J.of Ster.Biochem., Vol.4 (1973), 525-531

18) CAMERON,E.H.D., HAMMERSTEIN,J., JONES,D., MORRIS,S., GRIFFITHS,K., Steroid synthesis in a human virilizing adrenal carcinoma, Acta Endocrin.65 (1970), 133-147

19) CHANG,E.L., MITTELMAN,A., DAO,T.L., Metabolism of 4-^{14}C-testosterone in normal human adrenal homogenate, J.of Biol.Chem.238 (1963), 913-917

20) CHEMES,H.E., PODESTA,E., RIVAROLA,M.I., Action of testosterone, dihydrotestosterone,and of 5α-androstane-3α, 17β-diol on the spermatogenesis of immature rats, Biology of Reproduction 14 (1976), 332-338

21) CRONHOLM,T., SJÖVALL,J., Effect of ethanol on the concentrations of solvolyzable plasma steroids, Biochim. Biophys.Acta 152 (1968), 233-235

22) DEMISCH,K., AMMEDICK,U., STAIB,W., Testosterone metabolism in the isolated perfused human foetal liver, Europ. J.of Biochem.8 (1969), 284-286

23) DENEF,C., de MOOR,P., Sexual differentiation in the liver metabolism of steroid hormones organized by testosterone at birth, Annales d'Endocrinologie 31, Nr.4 (1970),785-788

24) DENEF,C., Effect of hypophysectomy and pituitary implants at puberty on the sexual differentiation of testosterone metabolism in rat liver, Endocrinology 94 (1974), 1577-1582

25) DER-FONG FAN, TROEN,P., Studies of the human testis VII: Conversion of pregnenolone to progesterone, J.of Clin. Endocrin.Metab.41 (1975), 563-574

26) DJØSELAND,O., HANSSON,V., HAUGEN,H.N., Androgen metabolism byrat epidydimis.1.)Metabolic conversion of ^{3}H-testosterone in vivo, Steroids, Juni 1973, 773-783

27) DJØSELAND,O., HANSSON,V., HAUGEN,H.N., Androgen metabolism by rat epidydimis.2.)Metabolic conversion of ^{3}H-testosterone in vitro, Steroids, März 1974, 397-409

28) DÖRNER,G., Zur Bedeutung prä- oder perinataler Umweltbedingungen für die postnatale Regelung neuroendokriner Systeme, Endokrinologie 61 (1973), 107-123

29) EBLING, .F., EBLING,E., McCAFFERY,V., SKINNER,J., The response of sebaceous glands of the hypophysectomized-castrated male rat to 5α-androstane-3β,17β-diol, J.ofInvevest.Dermatol.60 (1973),183-187

30) ECKSTEIN,B., SPRINGER,C., Induction of an ovarian epimerase-system catalyzing the transformation of 5α-androstane-3α,17β-diol to 5α-androstane-3β,17β-diol after treatment of immature rats with gonadotropins exhibiting FSH-like activity, Endocrinology 89 (1971),347-353

31) EIK-NES,K.B., in: The androgens of the testis (ed.K.B. Eik-Nes), Marcel Dekker, N.Y.1970,

32) EWING,L., BROWN,B., Formation and secretion of 5α-androstane-17β ole,3-one, 5α-androstane-3α,17β-diol and 5α-androstane-3β,17β-diol by the perfused rabbit testis epidydimis, Endocrinology 96 (1975), 479-485

33) FANG,S., ANDERSON,K.M., LIAO,S., Receptor proteins for androgens: On the role of specific proteins in selective retention of 17β-hydroxy-5α-androstane-3-one by rat ventral prostate in vivo and in vitro, J.of Biol.Chem. 244 (1969), 6584-6595

34) FANG,S., LIAO,S., Androgen receptors. Steroid and tissue specific retention of a 17β-hydroxy-5α-androstane-3-one bound protein complex by the cell nuclei of ventral prostate, J.of Biol.Chem.246 (1971), 16-24

35) FAZEKA,A.G., SANDOR,T., Metabolism of androgens by isolated human hair follicles, J.of Ster.Biochem., Vol.3 (1972), 485-491

36) FRASIER,S.D., HORTON,R., Androgens in the peripheral plasma of prepubertal children and adults, Steroids 8 (1966), 777-783

37) FROST,P., GOMEZ,E.C., WEINSTEIN,G.D., LAMAS,J., HSIA,S.C., Metabolism of progesterone 4-14C in vitro in human skin and vaginal mucosa, Biochemistry 8 (1969),948-952

38) FUNDER,J.W., FELDMAN,D., EDELMAN,I.S., Glucocorticoid receptors in rat kidney: the binding of tritiated dexamethasone, Endocrinology 92 (1973), 1005-1013

39) GAYLOR,J.C., CHANG,Y., NIGHTINGALE,M., RECIO,E., YING,B., Testicular sterols IV. End product steroid inhibition of lanosterol demethylation, Biochemistry 4 (1965),1114-1149

40) GELLER,J., CANTOR,Th., ALBERT,J., Evidence for a specific dihydrotestosterone binding cytosol receptor in the human prostate, J.of Clin.Endocr.Metab.41 (1975), 854-862

41) GHRAF,R., LAX,E.R., SCHRIEFERS,H., Sex and age dependent hydroxylation of testosterone in the liver of normally developed rats and in animals with disturbed sexual development, Acta Endocrin.71 (1972), 781-791

42) GHRAF,R., HOFF,H.G., LAX,E.R., SCHRIEFERS,H., The 5α-metabolites of testosterone: Mode and sex specifity of their formation in the rat liver, Acta Endocrin.75 (1973), 577-584

43) GOLDELSMANN,W., WIQUIST,N., DICZFALUSY,E., LEVITZ,M., CONDON,G.P., DANCIS,J., Fate of intraamniotically administered estriol-1S-^{3}H-3-sulfate and estriol-16-^{14}C-glucosiduronate in pregnant women at midterm, Acta Endocrin.Kbh.52 (1966), 550-564

44) GOLDMAN,A.S., KLINGELE,D., Persistent postpuberal elevation of activity of 5α-reductase in the adrenal of rat pseudohermaphrodites and correction by large doses of testosterone and DHT, Endocrinology 94 (1974), 1232-1240

45) GOMEZ,E.C., HSIA,S.C., In vitro metabolism of testosteron 14-^{14}C and androstene-3,17-dione-4-^{14}C in human skin, Biochemistry 7 (1968), 24f-32

46) GOMEZ,E.C., HSIA,S.C., FROST,P., Cutaneous transformation of testosterone into 5α-androstane-3β,17β-diole, J.of Clin.Endocr.and Metab.Vol.34, Feb.72 317-323

47) GOMEZ,E.C., LLEWELLYN,A., FROST,P., Metabolism of testosterone-4-^{14}C by hamster skin and flank organ, J.of Invest.Dermat.63 (1974), 383-391

48) GONZALES-DIDDI,M., KOMISARUK,B., BEYER,C., Differential effects of testosterone and dihydrotestosterone on the diverse uterine tissues of the ovariectomized rat, Endocrinology 91, Nr.4 (1972), 1129-1132

49) GOWER,D.B., STERN,M.I., Steroid excretion and biosynthesis with special reference to androst-16-enes in a woman with a virilizing adreno-cortical carcinoma, Acta Endocrin. 60 (1969), 268-275

50) GRIFFITHS,K., GLICK,D., The quantitative histological distribution of 11β-hydroxylase in the adrenal cortex of the rat and the influence of ACTH, Biochem.J.96 (1965) 23-31

51) GUSTAFSSON,J.A., STENBERG,A., Irreversible androgenic programming at birth of microsomal and soluble rat liver enzymes active on 4-androstene-3,17-dione and 5α-androstane-3α,17β-diole, J.of Biol.Chem.249, Nr.3 (1974), 711-718

52) HANSSON,V., TVETER,K.J., Uptake and binding in vivo of ^{3}H-labelled androgen in the rat epidydimis and ductus deferens, Acta Endocrin.Kbh.66 (1971), 745-755

53) HANSSON,V., DJØSELAND,O., Preliminary characterization of the 5α-dihydrotestosterone binding protein in the epidydimal cytosol fraction.In vitro study, Acta Endocrin.KbH.71 (1972), 614-624

54) HANSSON,V., DJØSELAND,O., REUSCH,E., ATTRAMADAL,A., TORGERSEN,O., Intracellular receptors for 5α-dihydrotestosterone in the epidydimis of the adult rat.Comparison with the androgenic receptors in the ventral prostate and the androgenic binding protein (ABP) in the testicular and epidydimal fluid, Steroids, July 1973, 19-33

55) HARTIALA,J., Testosterone metabolism in rabbit lung in vitro, Steroids and Lipids Research 5 (1974), 91-95

56) HARTIALA,J., NIENSTEDT,W., Testosterone metabolism in cock lung in vitro, Steroids and Lipids Research 5 (1974) 316-320

57) HARTIALA,J., UOTILA,P., NIENSTEDT,W., Metabolism of testosterone in the isolated perfused rat lungs, J.of Ster. Biochem.7,(1976), 527-533

58) HELLER,C.G., MORSE,H.C., SU,M., ROWLEY,M.J. in: The Human Testis (ed.E.Rosenberg, C.A.Paulsen), Plenum Press, N.Y. (1970), 245-259

59) HORST,H.J., DENNIS,M., KAUFMANN,J., VOIGT,K.D., In vivo uptake and metabolism of ^{3}H-5α-androstane-3α/17β-diol and of ^{3}H-5α-androstane-3β/17β-diol by human prostatic hypertrophy, Acta Endocrinol.79 (1975), 394-402

60) HSIA,S.C., HAO,Y.C., Metabolic transformation of cortisol-4-^{14}C in human skin, Biochemistry 5 (1966), 1469-1474

61) ISHIMARU,T., Plasma estradiol concentrations and effect of HCG on plasma estradiol and testosterone in normal subjects and patients with endocrine disorders, Endocrinol. Japonica 22(4) (1975), 287-296

62) JEAN,C., ANDRE,M., JEAN,Ch., BERGER,M., de TURCKHEIM,M., VEYSSIERE,G., Estimation of testosterone and androstenedione in the plasma and testes of cryptorchial offspring of mice treated with oestradiol during pregnancy. J.of Reprod.Fert.44 (1975), 235-247

63) JIRASEK,J.E., The relationship between the structure of the testis and differentiation of the external genitalia and phenotype of male, Ciba Found.Colloq.on Endocrinology Vol.16, Endocrinology of the testis, (Churchill, London, 1967) 3-27

64) JIRASEK,J.E., RABOCH,J., UHER,J., The relationship between the development of gonads and external genitalia in human fetuses, Amer.J.Obstet.Gynec.101 (1968), 830-833

65) KAORU,N., BUN-ICHI,T., Testosterone metabolism in subcellular fractions of rat prostate, Act.Endocrinol.73 (1973) 585-598

66) KELCH,R.P., LINDHOLM,U.B., JAFFEE,R.B., Testosterone metabolism in target tissues: 2.Human fetal and adult reproductive tissues, perineal skin and skeletal muscle, J.Clin.Endocrinol.32 (1971), 449-451

67) KOCHAKIAN,C.D., Early effect of androgen on the biosynthesis of protein and RNA by the postmitochondrial fraction of mouse kidney, Steroids 14 (1969), 77-90

68) LACROIX,E., ECCHAUTE,W., LEISEN,I., Modification sous l'influence de gonadotropins du mètaboline des androgènes par les testicules incubès de rats adultes, Annales d'Endocrinologie Paris 35 (1974), 685-686

69) LACROIX,E., ECCHAUTE,W., LEISEN,I., Influence of age on the formation of 5α-androstan-diol and 7α-hydroxy-testosterone by incubated rat testes, Steroids Vol.25 Nr.5 (1975) 717-723

70) Langmann,J., Medizinische Embryologie, Thieme Verlag Stuttgart (1972)

71) LEYDIG,F., Zur Anatomie der männlichen Geschlechtsorgane und Analdrüsen der Säugetiere, Z.Wiss.Zool.2 (1850) 1-25

72) LISBOA,B.P., GUSTAFSSON,J.A., Hydroxylase activities in the human foetal liver, Act.Endocrinol.Kbh.(suppl.) 138 (1969), 62-69

73) LISBOA,B.P., PLASSE,J.C., On the 2α-hydroxylation of testosterone by human fetal liver microsomes, Steroids Lipids Res.3 (1972), 142-150

74) LLORET,A.P., WEISZ,J., Metabolism of testosterone and 5α-dihydrotestosterone in vitro by the mature rat, Endocrinology 95 (1974), 1306-1316

75) McDONALD,P.C., ROMBAUT,R.P., SIITERI,P.K., Plasma precursors of estrogens I. Extent of conversion of plasma Δ4-androstenedione to estrone in normal males and nonpregnant, normal, castrate and adrenalectomized females, J.of Clinical Endocrinol.27 (1967), 1103-1111

76) McDONALD,P.C., GRODIN,J.M., SIITERI,P.K., The utilization of plasma androstenedione for estrone production in women, In: Progress in Endocrinology, ed.Gual,C.S., Excerpta Med.Foundation, Amsterdam 1969, 770-782

77) McGUIRE,J.S., TOMKINS,J.M., The heterogeneity of Δ 4-3-ketosteroid reductases, J.of Biol.Chem.235 (1960) 1634-1638

78) MENZEL,P., PENZES,C., MATZANDER,U., OERTEL,J.W., In vivo perfusion of human lung tissue with 7α-^{3}H-dehydroepiandrosterone-^{35}S-sulfate, Experientia (Basel) 26 (1970) 657-659

79) MICKAN,H., Vergleichende untersuchungen über den Stoffwechsel von (4-^{14}C)Progesteron in der fetalen Haut und in der Haut von Erwachsenen, Acta Endocrinol.70 (1972) 175-184

80) MINGUELL,J.J., SIERRALTA,J.D., Review: Molecular mechanisms of action of the male sex hormones, J.Endocrin. 65 (1975), 287-315

81) MOGER,H.W., ARMSTRONG,D.T., Steroid metabolism by the immature rat testis, Can.J.of Biochem.Vol.52, 9 (1974), 744-750

82) MORRIS,D.J., DAVIS,R.P., Complex formation of ^{3}H-aldosterone in rat kidney and liver, Steroids 21 (1973), 383-396

83) MOYLE,W.R., The action of luteinizing hormone on steroidogenesis in transplantable mouse testis tumor, Ph.D.Thesis, Harvard University, Cambridge, Mass.(1970)

84) MULAY,S., FINKELBERG,R., PINSKY,L., SOLOMON,S., Metabolism of 4-^{14}C-testosterone by serially cultured human skin fibroblasts, J.of Clin.Endocrin.34 (1972), 133-138

85) MUROTA,S., SHIKITA,M., TAMAOKI,B., Androgen formation in the testicular tissue of patients with prostate carcinoma, Biochem.Biophys.Acta 136 (1967), 484-497

86) NAFTOLIN,F., RYAN,K.J., DAVIES,I.J., Androgen aromatization by neurendocrine tissues, in: Subcellular mechanisms in reproductive neuroendocrinology, ed.:Naftolin,F., Ryan, K.J., Davies,I.J., 1976, Eisevier Publishing Company, Amsterdam, Netherlands

87) NEAVES,W.B., Leydig cells. A report for the Ford Foundation. Review of research and support in reproductive biology and contraceptive development, Contraception, May 1975, vol.11, Nr.5

88) NIEMI.M., IKONEN,M., HIRVONEN,A., Endocrinology of the testis, ed.: Wolstenholm, G.E.W., O'Connor,M., London, Churchill (1967),

89) NIKKARI,T., VALAVAARA,M., Effects of androgens and prolactin on the rate of production and composition of sebum in hypophysectomized rats, J.of Endocrinol.48 373-378.

90) NISHIDA,S., JUNGMANN,R.A., Biosynthesis of steroids from ^{14}C-cholesterol, ^{3}H-progesterone and ^{3}H-pregnenolone by human adrenal carcinoma tissue, Clin.Chim.Acta 52 (1974),17-103

91) OFNER,P., CHAMBERLAIN,J., JAGARINEC,N., Catabolism of (4-14C) testosterone by subcellular fractions of human prostate, Biochem.J.99 (1966), 610-616

92) OTA,M., SATO,N., OBARA,K., Sex differences in metabolism of testosterone by rat liver, J.of Biochem.72 (1972)11-20

93) PARSONS,J.C., MANGAN,F.R., NEAL,G.E., Some effects of testosterone on the rat ventral prostate, Biochem.J.117 (1970), 425-430

94) PATTERN,B.M., Human embryology, ed.: McGraw Hill Book Co.Inc., N.Y., 1953,

95) PETERS,H., Intrauterine gonadal development Fert.and Ster. Vol.27,Nr.5, May 1976, 493-502

96) PFLÜGER,H.R., In vitro Verstoffwechselung von 14C-Pregnenolon und enzymhistochemische Reaktionsmuster von fetalem Thymus und fetaler Lunge, Inauguraldissertation zur Erlangung eines Doktorgrades der Medizin, FBR Klinische Medizin, Tübingen (1973)

97) PINSKY,L., KAUFMAN,M., STRAISFELD,C., SHANFIELD,B., Lack of difference in testosterone metabolism between cultured skin fibroblasts of human adult males and females, J.of Clin.Endocrinol.metab.39 (1974), 395-398

98) PLASSE,J.C., LISBOA,B.L., Studies on the metabolism of steroids in the foetus - biosynthesis of epitestosterone in the human foetal liver, Eur.J.Biochem.39 (1973), 443-447

99) REDDY,V.V.R., NAFTOLIN,F., RYAN,K.J., Conversion of androstenedione to estrone by neural tissues from fetal and neonatal rats, Endocrinol.94 (1974),117-121

100) REPKE,K., SAMUELS,L.T., Enzymatic basis for epimerization of cardistonic steroids at carbon 3 in rat liver, Biochemistry (wash) 3 (1964), 689-695

101) ROBEL,P., Steroid hormone metabolism in responsive tissues in vitro, Act.Endocrinol.Kbh.Suppl.153 (1971), 279-294

102) ROBEL,P., BLONDEAU,J.-P., BAULIEU,E.E., Androgen receptors in rat ventral prostate microsomes, Biochem.Biophys. Acta 372 (1974),1-9

103) RYAN,K.J., NAFTOLIN,F., REDDY,V., FLORES,F., PETRO,Z., Estrogen formation in the brain, Am.J.Obstet.Gyn.114 (1972), 454-460

104) SCHINDLER,A.E., PFLÜGER,H.R., FRIEDRICH,E., Steroidstoffwechsel und Histochemie von Lunge und Thymus des Fötus, Endokrinologie 64 (1974), 47-57

105) SCHINDLER,A.E., Steroide im Fruchtwasser, Fortschritte der Geburtshilfe und Gynäkologie, Vol.46 (1972), 1-89

106) SCHINDLER,A.E., EBERT,A., FRIEDRICH,E., Conversion of androstanedione to estrone by human fat tissue, J.of Clin.Endocrin.35 (1972), 627-635

107) SCHINDLER,A.E., Betrachtungen zur Ätiologie des Corpus-Carcinoms, Bücherei des Frauenarztes, Vol.5 (1973), Enke-Verlag Stuttgart, 50-54

108) SCHINDLER,A.E., FRIEDRICH,E., Steroid metabolism of fetal tissues, Act.Endocrin.177 Suppl.(1973), 177

109) SCHINDLER,A.E., Steroid metabolism of fetal tissues. II.Conversion of androstenedione to estrone, Am.J. Obstet.Gyn.123 (1975), 265-268

110) SCHINDLER,A.E., Physiologie der Androgene und Wirkung der Antiandrogene bei der Frau, Die Medizinische Welt (1976), 1830-1835

111) SCHINDLER,A.E., Steroid metabolism in foetal tissues. IV.Conversion of testosterone to 5α-dihydrotestosterone in human foetal brain, J.of Ster.Biochem.(1976), 97-107

112) SCHMIDT,H., NOACK,I., VOIGT,K.D., Metabolism and mode of action of androgens in target tissues of male rats. II.Mode of action of testosterone and 5α-DHT at a cellular level of seminal vesicle and prostate of rats, Act.Endocrin.69 (1972), 165-173

113) SCHMIDT,H., GIBA-TZIAMPIRI,O., v.ROTTECK,G., VOIGT,K.D., Metabolism and mode of action of androgens in target tissues of male rats, Act.Endocrin.(Kbh.) 73 (1973), 599-611

114) SCHULTZ,F.M., WILSON,J.D., Virilization of the wolffian duct in the rat fetus by various androgens, Endocrinology 94 (1974), 979-986

115) SCHWEIKERT,H.U., WILSON,J.D., Regulation of human hair growth by steroid hormones.I.Testosterone metabolism in isolated hairs, J.of Clin.Endocrinol.Metab.38 (1974) 811-819

116) SCHWEIKERT,H.U., WILSON,J.D., Regulation of human hair growth by steroid hormones.II.Androstenedione metabolism in isolated hairs, J.of Clin.Endocrinol.Metab.39 (1974), 1012-1019

117) SEGAL,D.H., RAESIDE,J.I., Androgens in testes and adrenal glands of the fetal pig, J.of Ster.Biochem.Vol.6 (1975), 1439-1444

118) SHARMA,D.C., FORCHIELLI,E., DORFMAN,R.I., Inhibition of enzymatic steroid 11β-hydroxation by androgens, J.of Biol.Chem.238 (1963),572-575

119) SHARP,F., CALMAN,K.C., MILNE,J.E., YOUNG,H., The demonstration of hydroxysteroid dehydrogenase activity in in human foetal skin in the first 32 weeks of gestation, Brit.J.of Dermatol.83 (1970), 177-181

120) SHARP,F., HAY,J.B., HODGINS,M.B., Metabolism of androgens in vitro by human foetal skin, J.of Endocrinol.70 (1976), 491-499

121) SIEGENTHALER,W.(ed.), Klinische Pathophysiologie, Thieme Verlag Stuttgart 1973

122) SIITERI,P.K., WILSON,J.D., Testosterone formation and metabolism during male sexual differentiation in the human embryo, J.of Clin.Endocrinol.Metab.38 (1974) 113-125

123) SLAUNWHITE,W.R., KARSAY,M.A., HOLLMER,A., SANDBERG,A.A., Steroids Suppl.II (1965), 211-221

124) SOLOMON,S., Formation and metabolism of neutral steroids in the human placenta and fetus, J.of Clin.Endocrinol.26 (1966), 762-772

125) STEINBERGER,E., STEINBERGER,A., in: The regulation of mammalian reproduction (S.J.Segal, R.Crozier, P.A. Lorfman, P.G.Condliffe, ed.) Charles C.Thomas, Springfield (1973), 139-150

126) STERN,M.D., LING,W., COURTS,J.R.T., McNAUGHTON,M.C., SOLOMON,S., Metabolism of testosterone in previable human fetuses, J.of Clin.Endocrinol.Metab.40 (1975), 1057-1065

127) STEWART,M.E., POCHI,P.I., STRAUSS,J.S., WOTIZ,H., CLARK,S.J., In vitro metabolism of (3H)-testosterone by scalp and skin. Conversion of testosterone into 5α-androstane-3β,17β-diol, J.of Endocrinol.72 (1977), 385-390

128) STEWART,D.W., RAESIDE,J.I., Testosterone secretion by the early fetal pig testes in organ culture, Biol.of Reproduction 15 (1976), 25-28

129) SULCOVA,J., JIRASEK,J.E., STARKA,L., Transformation of testosterone into dihydrotestosterone by the primordia of human genitalia and by the fetal suprascapular skin, Ster.Lip.Research 4 (1973), 129-134

130) SULCOVA,J., STARKA,L., The metabolism of androgens in normal human testis and epididymis, Endocrinol.Exper. Vol.7 (1973), 113-121

131) SUZUKI,K., TAMAOKI,B., Testosterone metabolism and 5α-DHT-binding macromolecules in rat kidney, Ster.Lip.Research 4 (1973), 266-276

132) TAKAYASU,S., ADACHI,K., The conversion of testosterone to 17β-hydroxy-5α-androstane-3-one (DHT) by human hair follicles, J.of Clin.Endocrinol.Metab.34 (1972), 1098-1107

133) TAKAYASU,S., ADACHI,K., The in vivo and in vitro conversion of testosterone to 17β-hydroxy-5α-androstane-3-one (DHT) by the sebaceous gland of hamsters, Endocrinology 90, Nr.1 (1972), 73-91

134) TAYLOR,T., COUTTS,J.R.T., McNAUGHTON,M.C., Oestrogene formation in human foetuses perfused with 4-14C-progesterone, Act.Endocrin.75 (1974), 595-600

135) TORDAY,J.S., OLSON,E.B., FIRST,N.C., Production of cortisol from cortisone by the isolated, perfused fetal rabbit, Steroids Vol.27,Nr.6 (1976), 869-879

136) TSUJIMURA,T., MATSUMOTO,K., Progesterone metabolism in vitro by mouse testes at different stages of development, Endocrinology 94, Nr.1 (1974), 288-290

137) TSUJIMURA,T., MIZUTANI,S., MATSUMOTO,K., Pathway from progesterone to 5α-reduced C19-steroids not involving androstenedione and testosterone in immature mouse testes in vitro, Endocrinology 96 (1975), 515-518

138) UNHJEM,O., TVETER,K.J., Localization of androgen binding substance from the rat ventral prostate, Act.Endocrinol. Kbh.60 (1969),571-578

139) UNHJEM,O., TVETER,K.J., AAKVAAG,A., Preliminary characterization of an androgen-macromolecule complex from the rat ventral prostate, Act.Endocrinol.Kbh.62 (1969),153-164

140) UNHJEM,O., Studies on the uptake and binding of 5α-dihydrotestosterone by rat ventral prostate cell nuclei in vitro, Act.Endocrinol.Kbh.65 (1970), 533-540

141) VANDOORN,E.J., BURNS,B., WOOD,D., PIRD,C.E., CLARK,A.I., In vitro metabolism of ^{3}H-dihydrotestosterone and ^{3}H-androstane-diol in adult male rats, J.of Ster.Biochem. Vol.6 (1975), 1549-1554

142) VERMEULEN,A., RUBENS,R., VERDONCK,L., Testosterone secretion and metabolism in male senescence, J.of Clin. Endocrinol.34 (1972), 730-738

143) VERHOEVEN,G., LAMBERIGTS,G., DEMOOR,P., Nucleus associated steroid 5α-reductase activity and androgen responsiveness. A study on various organs and brain regions of rats, J.of Ster.Biochem.5 (1975),95ff-100

144) VIHKO,R., KUOKKONEN,A., Regulation of steroidogenesis in testes, J.of Ster.Biochem.5 (1974), 843-848

145) VOIGT,W., FERNANDEZ,E.P., HSIA,S.L., Transformation of testosterone int 17β-hydroxy-5α-androstane-3-one by microsomal preparations of human skin, J.of Biol.Chem. 245,Nr.21 (1970), 5594-5599

146) VOIGT,W., HSIA,S.L., Further studies on testosterone 5α-reductase of human skin - Structural features of steroid inhibitors, J.of Biol.Chem.248, Nr.12 (1973) 4280-4285

147) WASSERMANN,G.F., BALDI,A., DEL CASTILLO,E., CHARREAU, E., Metabolism of ^{3}H-testosterone by the adrenal of the dog: The action of ACTH, J.of Ster.Biochem.4 (1973) 217 -226

148) WIEBE,J.P., Steroidogenesis in rat Leydig cells: Changes in activity of 5-ane and 5-ene-3β-hydroxysteroid-dehydrogenases during sexual maturation, Endocrinology 98, (1976) 505-513

149) WILSON,J.D., GLOYNA,R.E., The intranuclear metabolism of testosterone in the accessory organs of reproduction, Rec.Progr.Horm.Res. 26 (1970), 309-336

150) WILSON,J.D., Testosterone uptake in the urogenital tract of the rabbit embryo, Endocrinology 92 (1973), 1192-1199

151) WILSON,J.D., SIITERI,P.K., Developemental pattern of testosterone synthesis in the fetal gonad of the rabbit, Endocrinology 92 (1973), 1182-1191

152) WILSON,M.J., SPAZIANI,E., SIGVARDT,K.A., The scrotum as target organ for testosterone: Hormonal control of amino acid distribution, Endocrinology 93 (1973) 743-747

153) WOODS,J.E., DOMM,L.V., Histochemical identification of the androgen-producing cells in the gonads of the domestic fowl and albino rat, Gen.Comp.Endocr.7 (1966) 559-570

154) WU,C.H., ARCHER,D.F., FLICKLINGER,D.L., TOUCHSTONE,J., In vitro oestrogen biosynthesis in foetal organs of midpregnancy, Act.Endocrinol.65 (1970), 675-682

155) YAMADA,F., MYAJI,H., KASAI,H., MATSUMOTO,K., Formation of 5α-reduched C19-steroids from progesterone in vivo by 5α-reduced pathway in older prepuberal rat testis, Biochim.Biophys.Act. 424 (1976), 82-89

156) YAIMAHARA,T., TROEN,P., Studies of the human testis II. Effect of estrogen on testosterone formation in human testis in vitro, J.of Clin.Endocrinol.34 (1972) 968-973

157) YAIMAHARA,T., TROEN,P., J.of Clin.Endocrin.Metab.34 (1972) 783-792

158) YASUE,S., YAMADA,M., MIZUTANI,S., MATSUMOTO,K., 5α-reduction of testosterone in vitro by seminiferous tubules, prostate and muscle from immature rats, Endocrinol.Japonic., Vol.21 Nr.2 (1974) 331-347

159) ZANISI,M., MOTTA,M., MARTINI,L., Feedback activity of testosterone and of it's 5α-reduced metabolites, in: Endocrine functions of the testis, 1973, 431-438

DANKSAGUNG

Professor Dr.med.A.E.Schindler gab mir das Thema für die vorliegende Arbeit. Durch ihn erhielt ich die Arbeitsmöglichkeiten im Endokrinologie-Labor der Universitätsfrauenklinik in Tübingen. Seine wissenschaftlichen Unterlagen stellte er mir freundlicherweise zur Verfügung. Für seine Hilfe bei der Erörterung aller theoretischen und praktischen Fragen möchte ich mich bei ihm herzlich bedanken.

Dr.Rietsch vom Biometrie-Institut der Universität Tübingen half bei der Konziperung des Statistischen Teils der Arbeit; auch bei ihm möchte ich mich bedanken.

Mein Dank gilt vor allem auch Frau Barbara Lerch. Ihre Geduld und ihr freundliches Entgegenkommen waren sowohl in der Zeit der Einarbeitung im Labor als auch während der Durchführung der Versuche eine wertvolle Hilfe.

Bedanken möchte ich mich aber auch bei Gerd Bönner und Rainer Kersten für die freundschaftliche und kollegiale Zusammenarbeit in der Zeit, während der diese Dissertation zustandegekommen ist.

L E B E N S L A U F

Ich, Johan Georg Winkler, wurde am 17.10.1947 als jüngstes der sechs Kinder der Zahnärzte Dr.med.dent. Joachim Winkler und Dr.med.dent.Gertrud Winkler, geb. Schütze in Hamburg geboren. Die Grundschule besuchte ich von 1953 bis 1957 teils in Hamburg-Eppendorf, teils in Wolmersdorf bei Meldorf/Holstein. Von 1957 bis 1967 war ich dann Schüler an der Gelehrtenschule des Johanneums, einem altsprachlichen Gymnasium für Jungen in Hamburg. Unterbrochen wurde diese Zeit durch einen einjährigen Aufenthalt als Austauschschüler in den USA; an der Milford Senior High School in Milford, N.H. erwarb ich das US-High School Diploma. Nach Ablegen meiner Reifeprüfung im Frühjahr 1967 studierte ich an den Universitäten Hamburg und Tübingen Evangelische Theologie; ich schloß dieses Studium im Sommersemester 1971 mit der Fakultätsexamen der Evg.-Theologischen Fakultät in Hamburg ab.- 1971 bis 1978 studierte ich dann an der Universität Tübingen Humanmedizin nach der AO. Das vorgeschriebene Praktische Jahr absolvierte ich am Kreiskrankenhaus Reutlingen. Nach Bestehen auch des Dritten Teils der Ärztlichen Prüfung am 28.4.1978 erhielt ich dann am 3.5.1978 meine Approbation als Arzt. Vom Juli 1978 bis September 1979 arbeitete ich als Truppenarzt beim Fallschirmjägerbataillon 251 in Calw, seit Januar 1980 bin ich als Assistenzarzt an der Chirurgischen Abteilung des Kreiskrankenhauses Hechingen beschäftigt.

Seit dem 11.9.1972 bin ich mit der Reallehrerin Susanne Winkler, geb.Oehlmann verheiratet und habe drei Kinder.